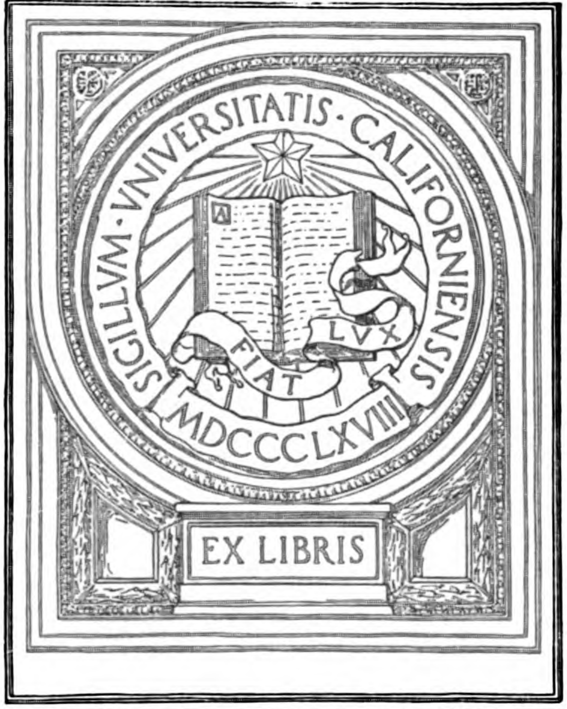
UC-NRLF
B 3 789 186

UNIVERSITY OF CALIFORNIA
MEDICAL CENTER LIBRARY
SAN FRANCISCO


SIGILLVM · VNIVERSITATIS · CALIFORNIENSIS
FIAT LVX
MDCCCLXVIII
EX LIBRIS

Gift of
HOOPER FOUNDATION

LZ

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten

Erste Abteilung. 84. Band

Originale

LZ

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten

In Verbindung mit

Prof. Dr. R. Abel,
Geh. Obermed.-Rat in Jena

Prof. Dr. R. Pfeiffer
Geh. Med.-Rat in Breslau

und

Prof. Dr. M. Braun
Geh. Reg.-Rat in Königsberg

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm
Geh. Reg.-Rat in Bamberg

und

Dr. A. Weber
Geh. Reg.-Rat in Berlin

Erste Abteilung. 84. Band

Medizinisch-hygienische Bakteriologie
und tierische Parasitenkunde

Originale

Mit 6 Tafeln und 126 Abbildungen im Text

Jena
Verlag von Gustav Fischer
1920

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 84. Heft 1.

Ausgegeben am 10. Januar 1920.

Nachdruck verboten.

Ueber Koloniebildung der Bakterien.

[Aus dem Hygienischen Institut der deutschen Universität in Prag
(Vorstand: Prof. Dr. Oskar Bail).]

Von **Otto Schubert.**

Mit 3 Figuren im Text.

Die Bildung bestimmt aussehender Bakterienkolonien ist eine durchaus rätselhafte Erscheinung. Es liegen offenbar Gesetze vor, wenn ein Bakterium bei seiner ungezählten Vervielfachung auf dem gleichen Nährboden immer die gleiche Form der Anhäufung, die Kolonie, zeigt. Sicherlich ist diese durch die Art der Unterlage, auf welcher das Wachstum erfolgt, mitbedingt; das beweist bereits das verschiedene Aussehen der Kolonien auf gleich starrem, gleich wasserhaltigem Agar oder Gelatine. Ebenso sicher vermag die Bildung von besonderen Teilungsverbänden (Bail) manche Eigentümlichkeit der Kolonie zu erklären, so das Zusammenbleiben in Fäden, die wellig-parallele Struktur der Kolonie von Subtilis und Milzbrand, die Lagerung in Ketten, die besondere Form der Streptokokkenkolonien usf. Warum aber innerhalb dieser verständlichen Eigenarten, die nur Details erklären, die Angehörigen der Typhus-Coli-Gruppe auf Gelatine immer die eigentümliche, so charakteristische Blattform, die der Friedländer-Gruppe und viele andere Bakterien immer die Halbkugelform annehmen, das ist ohne weiteres nicht verständlich, jedenfalls aus äußeren Gründen, die in dem Widerstande der Nährunterlage, der Oberflächenspannung, dem Wassergehalte wohl nicht begründet sein können. Es muß ein dem Wesen der Art angehöriges Gesetz es bewirken, daß auf dem gleichen Nährboden in der gleichen Petri-Schale Kolonien des verschiedensten Aussehens bei verschiedenen Arten entstehen, deren Form so unveränderlich festgehalten wird, wie dies eben dem Artcharakter, soweit wir einen solchen bei Bakterien feststellen können, entspricht.

Bei dieser Annahme ist allerdings die Aussicht, eine „Erklärung" der Kolonieform geben zu können, gering. Diese Arteigenschaft ist eben da, und es bleibt nur eine genaue Beschreibung übrig, die am eingehendsten durch Beobachtung der Kolonieentstehung möglich ist. Der Erklärung zugänglich bleiben dann noch immer die besondere Struktur der Kolonien und die eigentümliche Art ihrer Begrenzung, die immer, wenn auch in verschieden starker Ausprägung, dazu führt, daß die größte Bakterienanhäufung in der Mitte, die geringste am Rande vorhanden ist.

Die Frage nach der Entstehung und Organisation der Bakterienkolonie ist schon oft behandelt worden.

Abgesehen von etwas phantastischen Arbeiten, wie die von Münden und Serkowski, der ein Keimzentrum und einen Zentralkanal usw. an Kolonien unterschied und eine vollkommene Einteilung derselben auf Grund des artcharakteristischen, morphologischen Aussehens gab, ist von besonderer Bedeutung die Arbeit Axelrads. Darin wird ganz besonders auf die Wichtigkeit des Studiums am Einzelwesen hingewiesen, auf Grund dessen Verf. sogar eine Differenzialdiagnose der verschiedenen

Bakterienarten für möglich hält. Gotschlich (Kolle-Wassermann, Bd. 1. 1912) betont, daß der biologische Mechanismus, der bei vollständig freiem Einzelwesen ein ganz spezifisches und artcharakteristisches Wachstum hervorruft, ganz unbekannt ist.

Bei weitem die wichtigste und umfassendste Arbeit auf diesem Gebiete rührt von Hutchinson her. Er teilt die Kolonien in tiefliegende, übergehende und oberflächlich wachsende ein. Um ihre Entstehung zu verfolgen, geht er zunächst von der einzelnen Zelle aus und zeigt an Bacillus lactis albus die Entwicklung des Fadens bis zum flächenförmigen Gebilde, wobei er alles auf rein mechanische Vorgänge zurückführt. Es werden die wichtigsten Einflüsse und Bedingungen besprochen, die beim Wachstum mitwirken können, wie Beweglichkeit, Hygroskopizität, Konzentration des Nährbodens, Oberflächenspannung und Licht. Sodann geht er genau auf die Koloniestruktur ein, die an Schnitten gezeigt wird. Die wichtigsten Ergebnisse dieses Studiums sind folgende: die Kolonien weisen einen bestimmten Bau auf, die Glieder sind regelmäßig angeordnet und an Form verschieden.

Die Randpartien zeigen das lebhafteste Wachstum, indem später die Zellen in der Mitte absterben und Involutionsformen bilden, während die Randpartie weiterwächst, entstehen flache Oberflächenkolonien. Dann folgen noch Beobachtungen an Hefekolonien, die für die vorliegende Arbeit weniger Bedeutung haben.

Für die nachfolgenden Versuche kam der Unterschied zwischen oberflächlichen und tiefen Kolonien und Uebergangsformen beider nicht in Betracht. Es wurde nur die Entwicklung der weitaus am meisten charakteristischen Oberflächenkolonien untersucht, und zwar fast immer in Einzellkultur, welche durch die Burrische Tuschemethode leicht zu ermöglichen war.

Das Originalverfahren Burris ist in Kürze folgendes:

Man bringt auf eine Glasplatte nebeneinander 4 Tropfen auf $^1/_{10}$ verdünnter Grüblerscher Tusche, verreibt im ersten eine Spur Bakterienmasse, von da in den zweiten und usw. Aus dem letzten Tropfen, in dem die Bakterien bereits in genügend kleiner Zahl vorhanden sind, impft man mit einer feinen Feder oder Nadel auf eine Gelatineplatte und bedeckt den so entstandenen schwarzen Fleck mit einem Deckglassplitter, stellt dann im Mikroskop ein, sucht, welcher der Tuschpunkte einen einzelnen Keim enthält, läßt dann auskeimen und überträgt auf Agar.

Für die hier in Rede stehenden Zwecke eignen sich folgende Methoden besonders:

Man verdünnt, um Tusche zu sparen, in 2 Bouillonröhrchen. Im 1. (mit 1 ccm Inhalt) verreibt man so viel Bakterienmasse, daß eben eine deutliche Trübung entsteht; daraus nimmt man 2 Normalösen und impft das 2. Röhrchen (mit $^1/_2$ ccm Inhalt). Gibt man aus diesen wieder 1 Oese in einen Tuschetropfen, der auf einem Objektträger in feuchter Kammer liegt, und impft daraus mit einer Nadel ab, so bekommt man einen Tropfen, in dem ganz wenige Keime enthalten sind. Darauf nur ein einziges Bakterium im Tropfen zu erhalten, kommt es hier nicht an; es ist im Gegenteil besser, wenn mehrere in einem Tuschepunkt liegen, weil nicht jeder Keim entwicklungsfähig ist. Nur vollständig getrennt müssen die einzelnen Zellen voneinander liegen. Als Nährboden, auf den mit der Nadel geimpft wird, verwendet man am besten Agar, der nicht dick auf einen Objektträger aufgestrichen ist. Das Auflegen von Deckgläsern mußte bei diesen Untersuchungen naturgemäß vermieden werden, weil dadurch eine in ihrer Wirkung unbekannte Gewalt in die Kolonieentwicklung hätte eingreifen müssen.

Dieses Verfahren ermöglicht, die Entwicklung bis zur Kolonie zu verfolgen, aber nur in Abständen, weil sonst der Agar austrocknet. In der Zwischenzeit liegt der Objektträger in einer feuchten Kammer, die bei 37° C gehalten wird. Der Punkt, den man beobachten will, muß markiert werden. Es ist dann leicht, immer gleich wieder den rechten Punkt einzustellen. Das hier in Betracht kommende Objektiv ist das starke Trockensystem (Nr. 7) Ok. 4 (Firma Reichert).

Ein 2. Verfahren, das sich zur Dauerbeobachtung eignet, ist ein hängender Tropfen, in dem die Flüssigkeit durch Agar ersetzt ist. Man bringt auf ein Deckglas etwas Agar, läßt ihn ein wenig trocknen und impft nun in derselben Weise wie oben, nur mit einer feineren Nadel, infizierte Tusche darauf, läßt abermals trocknen, bringt den Agar in die Mitte der Höhlung des Objektträgers, schließt die Ränder des Deckglases luftdicht mit Paraffin ab und stellt im Mikroskop ein, das bei 37° C steht. Beim Aufsuchen der Bakterien ist es gut, nicht den ganz dunklen Rand des Tropfens einzustellen, weil dort die dicke Tusche das Koloniewachstum sehr stört, so daß man gar nicht die normalen Koloniebilder bekommt, sondern die hellere Mitte, wo die Tusche so dünn ist, daß man die Störung kaum merkt.

Bei Anwendung dieses Verfahrens kann man die Entwicklung der Bakterien unausgesetzt verfolgen, aber nur bis zu dem Stadium, wo ein Höhenwachstum erfolgt; von da an versagt die Methode, weil man die Kolonie nur mehr von der Basis her sieht.

Endlich ist noch ein Drittes möglich, aber etwas schwieriger auszuführen:

Man gießt die Höhlung des hohlgeschliffenen Objektträgers mit Agar zum Teil aus, impft mit Tusche und bestreicht den Rand rings um die Höhlung mit Paraffin. Dann legt man vorsichtig ein Deckglas darauf und drückt es so weit an, bis der Abstand zwischen Deckglas und Agar genau dem Abstand des Trockensystems vom Objekt entspricht.

Diese Methode hat vor der 2. den Vorteil, daß man die Kolonie von oben her sehen kann, ohne, wie dort, die Beobachtung unterbrechen zu müssen.

Die Koloniebildung des Bacillus subtilis.

Der Heubazillus ist wegen seiner Größe für diese Beobachtung sehr geeignet. Um die Mikrokultur zu machen, legt man am Vorabend eine Schrägagarkultur an und impft dann am nächsten Tag in der oben beschriebenen Art einen sterilen Tuschetropfen, woraus man mit einer feinen Feder einen kleinen Tropfen entnimmt, in dem womöglich nur 1—3 Keime enthalten sind, und ihn auf den Agar bringt. Nun wird im Mikroskop eingestellt und bei 30—37° C stehen gelassen. Nach $^3/_4$ bis $1^1/_2$ Std. beginnt das Stäbchen sich zu verändern; es wird größer und gewinnt an Lichtbrechungsvermögen. Nachdem das Bakterium eine gewisse Länge erreicht hat, beginnt die Teilung, die aber hier sehr schwer zu beobachten ist, weil die Tusche zwar den Keim in seinem Umfange sehr gut, aber Details kaum erkennen läßt. Deutlich zu verfolgen ist das Längenwachstum nach beiden Seiten und, je nach dem Stamm, eine mehr oder weniger starke Einschnürung. Der Verlauf der Entwicklung ist folgender:

Die durch die Teilung entstandenen 2 Stäbchen liegen in gerader Linie hintereinander und teilen sich selbst wieder, was sich eine Zeitlang wiederholt, wobei die neuen Teilungsprodukte immer in gerader Linie liegen, so daß eine Kette zustandekommt (Fig. 1a u. b). Dann aber merkt man, wie an einer Stelle eine zuerst ganz unscheinbare Ausbiegung immer stärker wird, bis endlich eine Knickung eintritt und schließlich die beiden Stäbchen, die die Winkelschenkel bilden, parallel nebeneinander liegen (Fig. 1 c, d u. e). Der eben geschilderte Vorgang ist typisch für die Kettenbildner.

Ein 2. Moment, das bei der flächenförmigen Koloniebildung eine große Rolle spielt, ist das Parallelgleiten der Teilungsverbände aneinander. In Fig. 1 f ist der Zusammenhang zwischen 1 und 2 unterbrochen, indem 2 schneller nach unten wuchs und 1 nun normal zur Längsseite von 2 stand. Da nun 2 ein unüberwindliches Hindernis bildete, glitt 1 diesem entlang (Fig. 1 f). Bei allen weiteren Figuren zeigt sich, daß immer 3 Momente in Betracht kommen:

1) Ausbiegung und Spaltung der Kette,
2) Parallelwachstum,
3) einfaches, mechanisches Verschieben.

(Die Pfeile deuten die Richtung an, in der die Ausbiegung erfolgt.)

Die Erklärung dieses Vorganges ist offenbar folgende:

Es sei eine 4-gliedrige Kette gebildet, innerhalb deren alle Glieder noch der Länge nach wachstumsfähig sind, wobei es gleichgültig ist, ob das Längenwachstum lediglich durch Streckung der einen Achse oder durch Teilung und nachträglicher Streckung der Teilglieder erfolgen soll. Das Dickenwachstum nach den beiden anderen Achsen kann in diesem Stadium außer Betracht bleiben. Dann haben offenbar nur die beiden Endglieder freie Streckungsmöglichkeit, soweit die Unterlage eine solche überhaupt zuläßt, und zwar nur nach außen hin, von den anderen Gliedern der Kette weg. Gegen diese zu müssen sich auch die beiden Außenglieder an die Enden der Innenglieder anstemmen, einen Druck auf sie ausüben, dem natürlich der Gegendruck der ihrerseits streckungsfähigen beiden Innenglieder entgegenwirkt. Soll die Kette gerade bleiben, so muß der Druck, der von den Innengliedern ausgeübt wird, derart zunehmen, daß er nicht nur dem Druck der sich anstemmenden Binnenteile des Außengliedes das Gleichgewicht hält, sondern diese auch in der Richtung der Längsachse weiterzuschieben vermag, um dadurch Platz für seine Streckung zu erhalten. In einer Flüssigkeit mit geringem Widerstande ist das Geradlinigbleiben der Keimkette verhältnismäßig leicht möglich, besonders, wenn noch aktive Beweglichkeit der einzelnen Glieder besteht. Auf einem starren Nährboden aber ist die Lage anders.

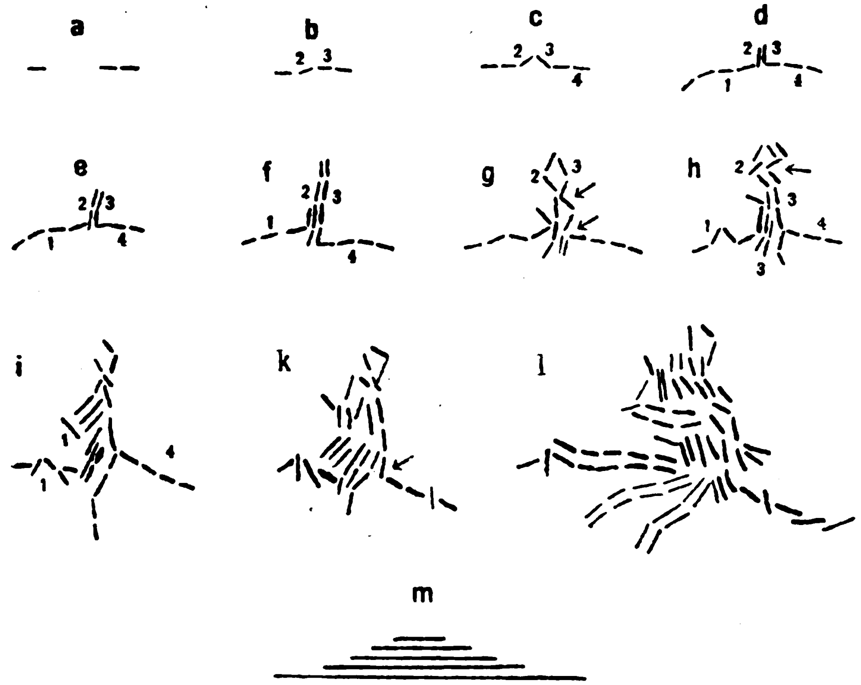


Fig. 1.

Hier müssen bereits bei 4- oder auch bei 3-gliedriger Kette die inneren Stäbchen unter dauernd höherem Drucke als die äußeren stehen, und die Kette kann nur so lange geradlinig bleiben, als die Innenglieder die höhere Kraft aufbringen. Das heißt aber, daß bereits beim ersten Beginn der Koloniebildung, also bei der bloßen Ausbildung des Teilungsverbandes, auf festem Nährboden für die einzelnen Zellen verschiedene Entwicklungsbedingungen bestehen: die inneren stehen unter einem Wachstumshindernis, da sie einen Teil ihrer gebildeten Energie anders als für sich selbst aufbrauchen müssen. Damit aber kann auch eine Differenzierung der Kettenglieder verbunden sein, die sich in einem Kürzerbleiben der Binnenglieder und der aus ihnen hervorgehenden Teilungsstücke äußern müßte. Ein solcher ist allerdings nur ungemein schwer festzustellen.

Dafür tritt eine andere notwendige Folge in der Knickung der Kette ein, die natürlich bei demjenigen Gliede eintreten muß, das nicht mehr die nötige Druckkraft aufzubringen vermag. Es müßte sich das Stäbchen entweder verbiegen, was wegen seiner Starre unmöglich ist, oder es muß aus der bisherigen Längsrichtung verdrängt werden. Das könnte so erfolgen, daß es mit seinem einen Ende überhaupt aus dem Faden heraustritt, wodurch dieser unterbrochen würde; bei Weiterteilung der jetzt freigewordenen beiderseitigen Endglieder würden 2 um ein geringes gegen die bisherige Richtung verschobene, sonst parallel verlaufende Fäden entstehen. Oder aber die Winkelstellung betrifft gleich 2 Binnenglieder, die sich dann gegeneinander und gegen den bisherigen Verlauf der Kette in Winkelstellung begeben, vielmehr in eine solche gedrängt werden. In diesem Augenblicke sind natürlich diese beiden Stäbchen von einem offenbaren Wachstumshemmnisse entlastet, ihre völlig freie Streckungsmöglichkeit nach der neuen, von der alten Richtung abweichenden Achse ist nur durch den Druck behindert, den sie mit ihren äußeren Enden aufeinander ausüben, und der sich jedesmal in der Beobachtung so ausgleicht, daß sich die beiden Stäbchen parallel zueinander und mehr oder weniger rechtwinklig zum alten Faden stellen. Es entstehen somit die Anlagen zu 2 neuen, streng parallel zueinander liegenden Abzweigungsketten. Die Druckentlastung ist aber auch für die alte Kette von Bedeutung. Dies äußert sich sehr auffällig darin, daß man bei einer bereits längeren Kette an mehreren Stellen das Entstehen von Knickungen beobachten kann, daß aber zunächst nur an einer die schiefgestellten Stäbchen zu neuen Fäden auswachsen. Offenbar macht sich dabei die Druckentlastung an einer Stelle auf alle Glieder der alten Kette bemerkbar. Diese aber ist damit unterbrochen. Ihre jetzigen neuen Enden, die in der gleichen Ebene mit den neu abgezweigten Fäden liegen, finden an ihnen ein Hindernis, richten sich auf, was in Fig. 1f bei 1 sehr deutlich zu sehen ist; oder es werden beide, sich gegeneinander stemmende Ketten abgelenkt, was bei 4 in Fig. 1g hervortritt. Binnen wenigen Stunden entstehen dadurch Bilder wie Fig. 1h, i, k, l, die in ihren Details nicht mehr zu entwirren sind, an deren Entstehung aber nunmehr sicher ein vielseitiger Druck beteiligt ist, den die sich kreuzenden und sonst durcheinander geratenen Längsrichtungen aufeinander ausüben.

Dazu kommt, daß in dem Augenblicke, wo 2 Stäbchen oder Ketten mit ihren Längsrichtungen aneinanderstoßen, auch das Wachstum in den Querdurchmessern Verschiebungen bedingen muß. Dabei ist ganz ungerechnet, daß Unebenheiten der Nährbodenoberfläche, auch wenn sie noch so gering sind, eine Aenderung der Zusammenlagerung herbeiführen müssen. Jedenfalls bleibt aber immer, sobald eine mikroskopische Einzelkontrolle an jedem neu entstehenden Stäbchen unmöglich wird, die Tendenz zur Bildung von Ketten und Parallellagerung derselben siegreich, wie dies bei Fig. 1 i, k, l zu erkennen ist.

Danach ist es im wesentlichen der durch das Wachstum und die Teilung bedingte Druck, der auf dem Agar mehr oder minder festhaftenden Teilstücke untereinander, der es bewirken muß, daß, statt einer einzigen Kette von beliebiger Ausdehnung, eine gewebsartige Ausbreitung in der Fläche erfolgt. Selbstverständlich wiederholt sich der am ersten Anfange der Koloniebildung erfaßte und geschilderte Vorgang überall dort, wo eine in der Peripherie zunächst frei auswachsende Kette unter die gleichen Bedingungen gerät; die jetzt hier veranlaßte Ausbreitung in der Fläche stößt mit einer andern zusammen, beeinflußt sie durch Druck und wird von ihrem Gegendruck selbst beeinflußt, so daß schließlich eine begrenzte Stelle des Nährbodens, im allgemeinen von rundlicher Gestalt, ganz und gar von dicht gelagerten Bakterien erfüllt ist, innerhalb deren die ursprüngliche Kettenbildung nur durch die Neigung zur Parallellagerung zu erkennen ist. In diesem Stadium, d. h. in dem Augenblick, wo ein begrenztes Stück Nährboden der Fläche nach ganz von Bakterien ausgefüllt ist, erfolgt eine weitere, mikroskopisch außerordentlich schwer zu verfolgende Verwicklung durch Bildung einer 2. Zellschicht über der 1., wodurch der Anfang des Höhenwachstums gegeben ist. An sich wäre es wohl denkbar, daß Knickungen der primären, aus einem Keim hervorgegangenen Kette nicht nur in der Ebene der Agarfläche, sondern senkrecht auf sie erfolgen könnten. Dann wären die Bedingungen zur Bildung einer oberen Schicht sehr frühzeitig gegeben. Dies wurde aber nicht beobachtet, obwohl es einer aufmerksamen Beobachtung nicht hätte entgehen können. Die ersten Anfänge der 2. Schicht setzen vielmehr immer erst dann ein, wenn ein Stück der Agaroberfläche tatsächlich bereits von Bakterien erfüllt war.

Dadurch wird der Eindruck hervorgerufen, daß den ersten Anstoß zur Schichtbildung ein passives Hochgedrängtwerden einer oder mehrerer Zellen bildet. Zu einer solchen ist, wie ein Blick auf die vollständige Raumerfüllung der Agarfläche ergibt, leicht Gelegenheit geboten. Notwendig dafür ist, daß auf ein, noch an dem Nährboden haftendes Bakterium mindestens von 2 Seiten ein Druck ausgeübt wird, der das Haften am Nährboden überwindet (dabei natürlich größer ist, als der Binnendruck in der Bakterienzelle selbst). Ein solcher Druck ist aber, gleiche Verhältnisse am Nährboden vorausgesetzt, nur in der Mitte einer dichten, flächenhaften Lagerung möglich, nur hier wird eine Zelle passiv dadurch emporgehoben werden; in den mehr peripher gelegenen Teilen würde der Druck, der sich entwickeln kann, immer auf einer, der zentralen Seite, stärker wirken, als auf der peripheren, und bringt dann nur eine Ausbiegung in der Fläche hervor. Bei der sich immer mehr oder minder vollständig einstellenden Parallelstellung der Stäbchenzüge erweckt es den Anschein, als ob hauptsächlich das Dickenwachstum der Teilstücke zu einer solchen Verschiebung in die Höhe Veranlassung geben würde; unmittelbar zu beobachten ist das natürlich nicht. Wohl aber lehrt die Beobachtung, daß die emporgehobenen Bakterien im Anfange der Schichtbildung immer horizontal über der unteren Schicht liegen, nicht vertikal gegen sie und die Agarfläche aufgerichtet sind, und daß sie sich zunächst wieder zur Kettenbildung anschicken. Eine längere Verfolgung ist nie gelungen, dürfte auch unmöglich sein, weil die unterliegende Bakterienschicht die Beobachtung erschwert, andererseits, weil das Empordringen von Bakterien, sobald es einmal eingesetzt hat, an vielen Stellen nebeneinander erfolgt. Dazu kommt ein Umstand, der einer ausdrücklichen Erwähnung bedarf: die Intensität der Vermehrung im Zentrum der Kolonien. Es ist wohl nicht zu bezweifeln, daß die Ernährungsverhältnisse in der Mitte einer solchen Ansiedlung zusehends schlechter werden müssen. Der sich erschöpfende Nährboden wird von unzähligen Individuen ausgenützt; die emporgehobenen Teilstücke liegen nicht mehr unmittelbar in seinem Bereich und sind wohl nur auf einen kapillaren Flüssigkeitsstrom angewiesen. Dennoch vermehrt sich die Bakterienzahl jetzt unter den Augen des Beobachters in geradezu sinnverwirrender Weise, so daß der Eindruck der stärksten Vermehrung gerade im Zentrum unter offenkundig schlechtesten Bedingungen nicht abzuweisen ist. Zu einem guten Teil mag das nur scheinbar sein, weil eben im Zentrum auch die meisten Individuen beisammen liegen. Jedenfalls aber kann man nach der Vermehrungsintensität hin nicht von einer geringeren Lebenskräftigkeit der Bakterien im Mittelpunkte der Ansiedlung sprechen.

Es wäre auch durchaus nicht von der Hand zu weisen, daß die Anhäufung von Stoffwechselprodukten, die im Zentrum einer solchen Anhäufung besonders rasch eintreten muß, einen Reiz für die Schnelligkeit der Vermehrung abgibt, was nicht hindert, daß sie in der Folge die rasch entstandenen Teilstücke zu einem frühen Absterben bringt, wie das Hutchinson hervorhebt und wie dies Gotschlich und Weigand für Cholera in Agarstrichen nachgewiesen haben.

Die einmal in die 2. Schicht emporgehobenen Bakterien scheinen sich unter ganz anderen Bedingungen, als die unmittelbar dem Agar auflagernden zu befinden. Es fehlt ihnen das Anhaften an der Unterlage, und so kommt es sehr bald zur Ausbildung einer 3. Schicht über der 2. usf. Aber soweit sichere Beobachtungen noch möglich sind, ergeben sie stets, daß die 3. Schicht sich über der ungefähren Mitte der 2. erhebt, so daß bei Betrachtung der kleinen Kolonie in ihrer ganzen Ausdehnung folgendes Schema entsteht: Fig. 1*m*.

Nunmehr setzt aber auch jene Eigentümlichkeit ein, die Hutchinson an Schnitten von Kolonien in schönster Weise zeigen konnte: die Entstehung steil gerichteter Bakterienschichten. Sie ist wohl so zu erklären, wie das oben angedeutet wurde. Das Festhaften am Nährboden, das für die Ausbildung der 1. Kolonieschicht, die sich nur in der Fläche ausbreitet, bestimmend ist, gilt nicht mehr in gleicher Weise für die Bakterien der 2. und folgenden Schichten. Diese können einem seitlichen Druck nicht nur nach der Fläche hin, sondern auch nach oben hin ausweichen, und es kommt ein Zeitpunkt, wo dies überwiegend geschieht. Da nun das damit verbundene Senkrechtstellen der Stäbchen nicht nur an einer, sondern gleichzeitig an vielen Stellen der mittelsten Schicht erfolgt, so entsteht nunmehr das Bild einer senkrechten Strömung der Bakterien nach oben. Bei der direkten Beobachtung nach Methode II sieht man in diesen Stadien zahllose optische Querschnitte von Stäbchen zwischen die von der Seite her gesehenen Bazillen eingelagert, so daß man Kokken zwischen den Heubazillen zu sehen glaubt. Beim Schnitt durch die größer gewordene Kolonie ergeben sich die Bilder ganz analog den von Hutchinson wiedergegebenen. So kommt es bei fortgesetzter Wachstumsintensität in der eben geschilderten Weise zu einem Ueberfluten auf die Randzone, wodurch eine solche Kolonie einem Vulkan nicht unähnlich wird. Der starre Berg entspricht der Randzone, der Krater mit der glühenden, beweglichen Lava dem Zentrum mit den Keimen, die erstarrte Lava am Abhange des Berges den überfließenden Bakterienmassen. Ein besonders guter Beleg für diese Auffassung ist folgendes mehrmals beobachtete Bild: Die erste, flächenhafte Bakterienansammlung war nicht kreisrund, sondern länglich mit einem auslaufenden Zipfel. Die Kolonie entwickelte sich dann genau wie sonst, bis es zum Ueberfließen kam; dann konnte man sehen, wie der Zipfel noch mit der genau gleichen Anordnung der Grundplatte herausragt und gleich daneben steil abfallend die aus dem Zentrum übergeflossenen Bakterien liegen. Diese Erscheinung ist nicht anders zu erklären als durch Zentrumswachstum; wäre es eine gleichmäßige Entwicklung aller Teile, so könnte unmöglich ein Stück der Grundfläche noch da sein, während unmittelbar daneben tausende von Schichten liegen.

Damit wäre die Koloniebildung des Bacillus subtilis, soweit sie überhaupt erklärbar ist, auf folgende Punkte zurückgeführt: 1) auf die dem Bac. subtilis eigentümliche Kettenbildung. Könnte diese allein zur Geltung kommen, so müßte bei vollkommen gleichmäßiger Nährfläche aus dem Keim eine einzige Kette, die nach einer Richtung zieht, entstehen. Daß dies nicht geschieht, ist 2) auf das Festhaften des Keims und seiner nächsten Teilstücke an der Nährfläche zurückzuführen, weshalb es unausbleiblich ist, daß 3) ein Druck infolge der Vergrößerung der Teilstücke zunächst nur nach der Längsachse innerhalb der Kette entsteht und zu Knickungen derselben Veranlassung gibt. Knickungen bedeuten aber mechanische Druckentlastung, die 4) zu einer Aenderung der Achsenrichtung einzelner Teilstücke führt. Damit wird das nur nach einer Linie orientierte Wachstum in das einer Fläche verwandelt, innerhalb deren es zur Ausbildung mannigfaltiger Druckrichtungen und Ausweichen der davon betroffenen Stäbchen kommt. Füllen sie einmal ein Stück Nährbodenfläche aus, so muß es in den zentralen Teilen derselben 5) zu einem mindestens zweiseitigen Druck auf einzelne Stäbchen kommen, der ihr Anhaften auf dem Nährboden überwindet und sie zu einer 2., horizontal über der 1. liegenden Bakterienschicht emporhebt. Innerhalb dieser herrscht nicht mehr das feste Anhaften der Substratfläche und infolgedessen kommt es leicht zu einer Senkrechtstellung der Teilstücke und einem scheinbaren Wachstum senkrecht zur Agarfläche, das dann hauptsächlich das Höhenwachstum der Kolonie bedingt. Wie daraus zu ersehen ist, ist als wesentliches Moment für die Koloniebildung das Haften der Bakterien am Nährboden anzusehen. Dieses erfolgt in Flüssigkeiten nicht und daher ist auch in Flüssigkeiten, solange sie frei beweglich sind, von einer wirklichen Koloniebildung nicht die Rede. Nur Andeutungen davon können sich ausbilden; indem z. B. die Teilungsverbände (Ketten) des Milzbrandbazillus am Grunde einer Bouillonzucht auch mit freiem Auge kenntlich werden. Sonst ist nur an der Oberfläche von ruhenden Flüssigkeiten durch die hier nicht weiter zu analysierende Oberflächenspannung zur Ausbildung einer Art von Kolonien Gelegenheit geboten.

Das ändert sich aber sofort, sobald man Nährflüssigkeiten durch feine Kapillarverteilung sozusagen fest macht, indem man sie von festem Material, das keinerlei Wert als Nährmedium hat, aufsaugen läßt. Zu diesem Zweck tränkt man sterile, poröse Schamotteplatten mit Bouillon, legt sie in eine Petri-Schale und bestreicht sie dann mit bakterienhaltigem Material — so wie man eine gewöhnliche Agarplatte behandelt

—, dann zeigen sich nach Bebrütung von gewöhnlicher Dauer sehr schöne Kolonien, die in ihrem Aussehen sonst vollkommen den Kolonien auf Agarplatten entsprechen, nur sind sie saftiger. Hier ist das Nährsubstrat eine reine Flüssigkeit, ein Beweis dafür, daß nur ein fester Grund zum Haften der Bakterien nötig ist. Um diesen Versuch auch mikroskopisch kontrollieren zu können, wurde Fließpapier oder Seidenpapier mit Bouillon getränkt (indem man die Höhlung eines hohlgeschliffenen Objektträgers mit Flüssigkeit füllt und dann die eine Hälfte mit einem Streifen Seidenpapier bedeckt, auf das die Bakterien geimpft werden). Bei starker Vergrößerung sieht man nun tatsächlich ganz typische Kolonien, die, mit Ausnahme der starken Feuchtigkeit, ganz den Agarkolonien entsprechen. Man hat es aber noch in einer anderen Weise in der Hand, das Haften der Keime am Nährboden zwar nicht aufzuheben, aber weitgehend zu modifizieren. Man mischt Agar mit verschiedenen Mengen Bouillon (1 : 0, 1 : 1, 1 : 2, 1 : 2½, 1 : 3), wobei es

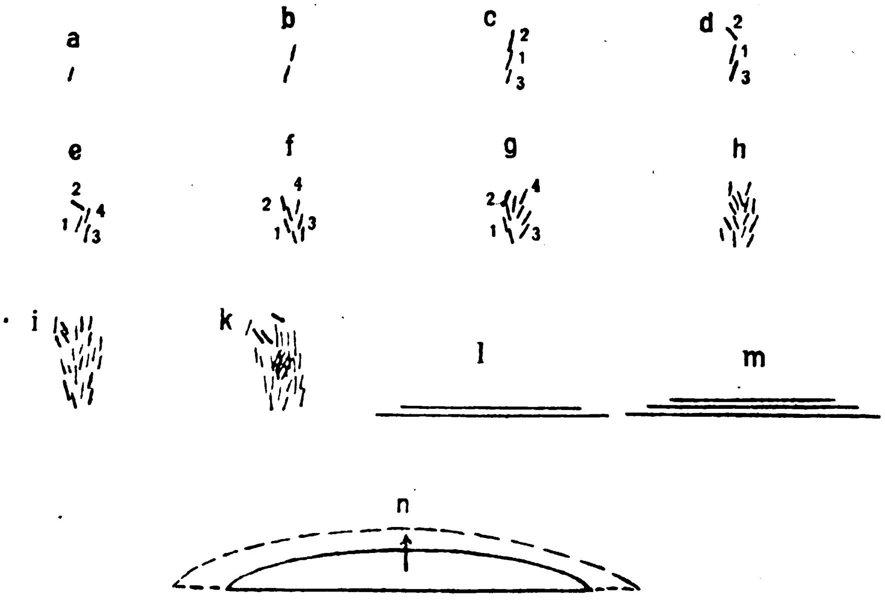


Fig. 2.

wichtig ist, darauf zu achten, daß keine freie Flüssigkeit auf der Agaroberfläche liegt. Läßt man nun bei Zimmertemperatur wachsen, so zeigt I (1 : 0 als Kontrolle) normale Kolonien, II (1 : 1) zeigt der Form nach noch I entsprechende Bilder, aber deutlich aufgelockert, III (1 : 2) gibt ein ähnliches Bild, nur noch mehr gelockert, oft mit einem Hof, IV (1 : 2½) zeigt endlich, sofern man nur die Platten früh genug ansieht, das für unsere Zwecke brauchbarste Bild. Die Kolonie besteht aus 2 Teilen, Rand und Zentrum. Man kann deutlich sehen, daß das Flächenwachstum das Höhenwachstum überwiegt, ferner, daß die Lockerheit der Kolonie darauf hindeutet, daß hier das Moment, welches die völlige Ausfüllung eines Nährbodenteiles mit Bakterien herbeiführt, nicht mehr voll wirksam ist. Dieses ist aber nach der obigen Erklärung gerade das Haften am Nährboden, das sekundär zu einem gegenseitigen Druck der Teilstücke, der sie unter oftmaliger Aenderung ihrer Gesamtwachstumsrichtung aneinander bringen muß.

Erschien so die Ausbildung der Kolonien des Bacillus subtilis und damit wohl auch die seiner Verwandten dem Verständnisse näher gebracht, so mußte die Entstehung anderer Kolonietypen noch eigens verfolgt werden. Das geschah zunächst für den Typhusbacillus. Die Entwicklung vom Einzelkeim aus ergibt folgende Bilder: Der Bazillus teilt sich, und beide Teilstücke bleiben zunächst geradlinig beisammen, Fig. 2a u. b, aber nach wenigen Minuten kann man schon sehen, wie sich der eine Keim an der Teilungsstelle gegen den andern verschiebt, Fig. 2c; es hat sich aber auch der untere Keim von neuem geteilt und es ist bereits die Verschiebung zu sehen. In Fig. 2d ist Keim 2 mechanisch von 1 geschoben worden, wobei vielleicht eine Unregelmäßigkeit im Nährboden mitgewirkt hat. Fig. 2e zeigt 1 und 2 noch unverändert, aber aus 3 ist eine Teilung entstanden, wobei der ursprüngliche Keim sich verschoben hat und der neue wie ein Keil zwischen 1 und 3 liegt. In Fig. 2f ist Keim 2 geteilt, 1 ist mechanisch verschoben worden und hat sich 2 mal geteilt, auch 3 ist in Teilung begriffen. Die folgenden Bilder Fig. 2g, h, i sind im einzelnen kaum mehr sicher zu deuten. Doch ist deutlich zu sehen, daß es auch hier — auf andere Art — zu einem ähnlichen Resultat kommt wie beim Subtilis, nämlich zum dichten Verbande, der sich wieder lückenlos füllt. Fig. 2k zeigt, daß auch hier Höhenwachstum eintritt.

Es ist nicht schwer, diese Entwicklung zu verstehen. Auch der 1. Typhusbazillus haftet am Nährboden fest. Die bei seiner Teilung entstehenden beiden Stücke werden aber sofort selbständig, lösen sich nach der Zerschnürung sofort ohne weiteren Zusammenhang. Sowie sie nun eine Längsstreckung durch Wachstum annehmen, knicken sie an der Abschnürungsstelle nicht unmerklich ein, und das genügt beim Fehlen jedes Zusammenhanges, um ihre beiden Enden auseinander zu bringen, worauf sich die Teilstücke selbständig verlängern. Die ausgewachsenen Stäbchen liegen dann ungefähr parallel zueinander, sind aber treppenartig gegeneinander verschoben, ein Verhältnis, dem man auch in späteren Stadien noch oft begegnet. So füllt sich hier verhältnismäßig rasch ein Stück der Nährbodenfläche mit Bakterien voll aus, worauf das Emporheben eines Stäbchens in eine 2. Schicht rasch erfolgt, und zwar, im Gegensatz zu Bacillus subtilis, sehr vielfach über die ganze, von vornherein mit Bakterien dicht gefüllte Schicht. Infolgedessen ist die 2. Schicht ausgedehnt, nicht viel kleiner als die 1., die wieder in den Randpartien einfach bleibt. Zu erwähnen ist noch, daß Marassini bei einer Untersuchung über das Vorhandensein einer Bakterienhülle ganz gleiche Resultate bezüglich der Teilung bei Typhus erhielt (Centralblatt f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 71. S. 123) Proteus.

Ein ganz besonderes Interesse verdient die Koloniebildung der Proteus-Bazillen, die wegen ihres bekannten Ausschwärmens auf Gelatineplatten und ihrer ganz flächenhaften Schleierbildung auf Agar in Versuch genommen wurden. Angestellt wurden die Versuche mit dem Weilschen Fleckfieberproteus x 19. Es ist bekannt, daß dieser (Wien. klin. Wochenschr. 30. Jahrg. No. 48; 31. Jahrg. No. 23 u. 36) in 2, als o und h unterschiedenen Formen auftritt, wobei sich *o* durch das alleinige Vorkommen von kompakten, scharfbegrenzten Kolonien ohne jede Schleierbildung von h unterscheidet. Ueber die reinen O-Formen ist nicht viel zu sagen: sie folgen in ihrer ersten Entwicklung vollständig dem Typus der Typhuskolonien. Anfänglich entwickeln sich auch die h-Stämme so, doch macht sich bei ihnen sehr bald ein Wachstum in Ketten geltend, die an Länge zunehmen und plötzlich eine schwer zu beschreibende, aber leicht zu sehende Flimmerbewegung annehmen, die offenbar auf starke Geißeltätigkeit zurückzuführen ist, durch welche die Tuschekörnchen in Bewegung geraten. Die Kette tritt dann aus der werdenden Kolonie heraus und wandert auf die freie Agarfläche. Sehr bald sieht man in der Mitte nur Reste der angesetzten Kolonie, ringsumher Züge von wandernden Ketten. Diese haben, wenn sie auch beweglich sind, eine Form wie sie Fig. 3 a zeigt: eine Schleife, die die Biegung zum Kopf hat und sich nach dieser Richtung hin fortbewegt. Unter besonderen Umständen, wenn nämlich andere Bakterien oder sonstige Hindernisse ringsum im Wege stehen, gleitet die Schleife an ihnen entlang und rollt sich, der Form der umgebenden Hindernisse entsprechend ein, wobei ihre Geschwindigkeit immer größer wird, bis sie sich endlich als vollkommene Spirale zwischen der ruhig stehenden Umgebung mit der größten Geschwindigkeit dreht, ein sehr auffälliges Bild (Fig. 3 b). Bei dieser raschen Ausbreitung ist in kürzester Zeit die ganze Agaroberfläche bedeckt, wodurch der Schleier zustandekommt, der in geradem Gegensatz zur Subtilis-Kolonie steht. Dadurch, daß hier die Bakterien vollkommen frei beweglich sind, kommt es zu keiner eigentlichen Koloniebildung, was die oben erläuterte Annahme voll bestätigt, daß nämlich der wichtigste Grund für die Koloniebildung mit Höhenwachstum das Haften der Keime am festen Nährsubstrat ist. Hier gibt es ein solches infolge der Beweglichkeit der Bazillen nicht, infolgedessen auch keine gegenseitige Teilungsbehinderung, daher auch kein Höhenwachstum und keine runden, begrenzten Kolonien, außer dort, wo die Bakterien in großer Masse liegen und den ihnen zur Verfügung stehenden Raum voll ausgefüllt haben, aber die Höhe anderer Bakterienkolonien erreichen sie nicht. Hier geschieht alles durch Ausbreitung, dort durch Zentrumswachstum, hier herrscht größte Freiheit, dort größte Gebundenheit und gegenseitige Behinderung.

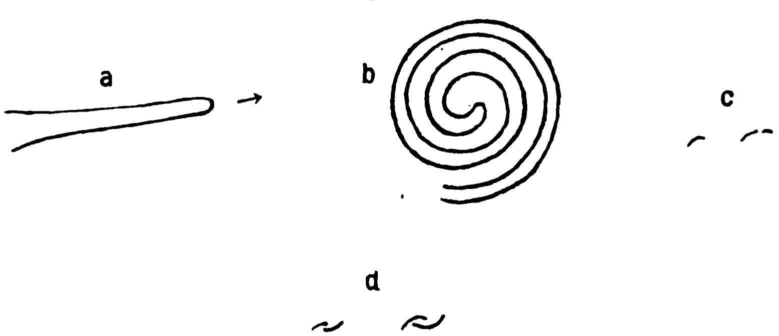


Fig. 3.

Staphylokokken.

Der einzelne Kokkus teilt sich zunächst in 2 Tochterkeime. Der eine davon teilt sich wieder, doch nicht in derselben Richtung weiter, sondern senkrecht auf die 1. Teilungsrichtung usw. Dann aber geht die Entwicklung nicht mehr so regelmäßig von statten; es entsteht eine Flächenform, die von vornherein ganz mit den dicht gelagerten Kokken erfüllt ist. Sowie diese durch Dickenzunahme förmlich aufquellen, werden vorerst in der Mitte, dann aber vielfach über die ganze Fläche, ausgenommen die äußeren Randpartien, einzelne Kokken in die Höhe gedrückt und bilden die 2. Schicht, die wieder von der Mitte aus der

3. den Ursprung gibt. Die regste Teilungsvermehrung bleibt im Zentrum, woraus sich das nahezu regelmäßige Halbkugeligwerden der Kolonien sofort erklärt. Es wurde noch eine Reihe anderer Bakterien untersucht, die jedoch keine Besonderheiten mehr zeigten, Coli, der wie Typhus wächst, Milzbrand wie Subtilis, Streptokokken, die schon Hutchinson genau beobachtet hat, dann Cholera, bei der die Teilung interessant ist. Man sieht nämlich oft, daß bei der Teilung, die sonst ganz dem Typhus entspricht, zunächst die Vibrionen in gerader Linie liegen; dann aber verschieben sie sich so, daß sie einander die konkaven Seiten zukehren (Fig. 3 c, d). Diese Wendung dürfte wohl nicht anders als durch aktive Drehung der Vibrionen zu erklären sein, die sie zwar nicht vom Flecke fortzubringen, wohl aber umzurollen vermag. Außerdem ist in der Tusche auffällig, daß die Kolonien immer gelappt sind, was offenbar mit der Vibrionenform zusammenhängt.

Sehr schöne Bilder ergab auch der Bacillus pneumoniae, bei dem man die Entwicklung der Kapseln verfolgen konnte. Der Bazillus samt seiner Kapsel sieht zu Beginn in der Tusche einer Hefezelle ähnlich. Allmählich sieht man aber, wie die Kapsel an Größe zunimmt, wobei das Bakterium vollkommen durch sein starkes Lichtbrechungsvermögen unterschieden bleibt. Die Teilung erfolgt innerhalb der Kapsel und entspricht dem Typus Typhus. Wegen des Platzmangels sind aber die Bakterien gezwungen, sich in der Kapsel in Zickzacklinien zu legen. Die weitere Vermehrung geht innerhalb der Kapsel vor sich, aber nur bis zu einem gewissen Stadium, dann verlassen die einzelnen Bakterien die Kapsel und bilden eine Kolonie, die ein ganz charakteristisches Aussehen hat und mit nichts anderem zu verwechseln ist.

Ueber die weitere Entwicklung ist nichts besonderes mehr zu erwähnen; die Schlußform, die reine Halbkugel, entspricht vollkommen der Annahme, daß das stärkste Wachstum mit schnellster Vermehrung im Zentrum erfolgt.

Nachdruck verboten.

Weitere Beiträge zur experimentellen Fleckfieberinfektion des Meerschweinchens.

[Aus der serologischen Abteilung des Instituts „Robert Koch“ (Abteilungsvvorsteher: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Otto).]

Von **R. Otto** und **P. Papamarku.**

Im Anschluß an die Arbeiten von Nicolle, Conseil und Conor, Gavino und Girard, Anderson und Goldberger u. a. hatten Otto und Dietrich (1) vor einiger Zeit über die experimentelle Fleckfieberinfektion des Meerschweinchens berichtet. Die Versuchsergebnisse sprachen ebenso, wie die der genannten Forscher, dafür, daß das Meerschweinchen für diese Infektion empfänglich ist. Auch eine große Reihe anderer Autoren hat die Empfänglichkeit des Meerschweinchens für das Fleckfiebervirus bestätigt. Es seien hier nur genannt: v. Prowazek (2), da Rocha-Lima (3), Loewy (4), Töpfer (5), Nöller (6), Paltauf (7), Olitzky (8), Ritz (9), Landsteiner und Hausmann (10), Werner und Leoneanu (11), Dörr und Pick (12), Moellers und Wolff (13). Otto und Dietrich waren zu dem obigen Schlusse auf Grund von Passageversuchen, Immunitätsprüfungen und pathologisch-anatomischen Befunden gelangt, trotzdem die Tierversuche durch Mischinfektionen teilweise gestört wurden. Diese letzteren waren durch das schlechte Tiermaterial, dann aber warscheinlich auch durch die bei der Passage fast regelmäßig benutzte Art der Virusübertragung (intraperitoneale Verimpfung von Blut) bedingt gewesen.

Bei der Wiederaufnahme der Versuche haben wir daher auf diese Uebertragungsart fast ganz verzichtet. Nachdem die Versuche von Otto und Dietrich bereits ergeben hatten, daß — wie Nicolle und Blaizot (14) wohl zuerst gezeigt haben — auch die Organaufschwemmungen fleckfieberkranker Tiere infektiös sind, wurden wir besonders durch die Arbeiten von Landsteiner und Hausmann, sowie von Dörr und Pick veranlaßt, der Infektion mit Gehirnemulsion den Vorzug zu geben. Durch die nachfolgenden Versuchsergebnisse werden die günstigen Erfahrungen der genannten Autoren durchaus bestätigt. Die Infektion mit Gehirnemulsion ist danach in bezug auf den Erfolg sicherer und hinsichtlich der Gefahr der Mischinfektion ungefährlicher als die Blutübertragung. Wenn trotzdem noch Mischinfektionen auftraten, so lag dies lediglich an dem zur Verfügung stehenden Tiermaterial. Aeußerlich machten die von uns zu den Versuchen ausgewählten 230—280 g schweren Tiere niemals einen kranken Eindruck. Erst nach der Infektion mit Fleckfiebervirus traten die bei ihnen latent bestehenden Krankheiten in Erscheinung. Wir hatten bei einzelnen Versuchsserien (z. B. Passage No. 5) noch starke Verluste durch interkurrente Krankheiten (Pseudotuberkulose, Meerschweinchenseuche), daß die Fortführung der Passage gefährdet war.

Bevor wir auf die einzelnen Beobachtungen, die wir an rund 200 Meerschweinchen während 20 Passagen des Virus durch das Tier anstellen konnten, näher eingehen, sei kurz über die Herkunft des Materials berichtet:

Das zu den folgenden Versuchen benutzte Virus stammte von Meerschweinchen, welche im Wilnaer Seuchenlazarett mit dem Blute eines am 6. Krankheitstage stehenden Fleckfieberkranken von Dr. Grütz infiziert waren. Die Infektion erfolgte intraperitoneal mit 2 ccm defibrinierten Blutes unmittelbar im Anschluß an die Blutentnahme. Es gelang dem einen von uns eine Anzahl der in Wilna infizierten Tiere nach Auflösung des dortigen Laboratoriums am 22. Dez. 1918 nach Berlin zu überführen.

Die nachfolgenden Passagen (mit Ausnahme des Tieres No. 1742) stammen von dem Meerschweinchen No. 604 (Passage Wilna A) ab. Die Körpertemperatur dieses Tieres betrug am 23. Dez. abends (in Berlin) 36,0° C. Am 24. Dez. stieg die Temperatur auf 39°; am 25. Dez. betrug die Höchsttemperatur 39,5°. Das Tier wurde an diesem Tage getötet und mit seinem Herzblut bzw. mit Organaufschwemmungen (Leber, Lunge, Gehirn) eine Anzahl Meerschweinchen infiziert, die sämtlich nach einer Inkubation von 8—12 Tagen mit Fieber erkrankten.

Das Meerschweinchen 1742 wurde mit dem Blut von dem Wilnaer Meerschweinchen 802 (Passage Wilna C) infiziert. Dieses letztere Meerschweinchen war gleichfalls am 11. Dez. 1918 in Wilna geimpft worden; seine Körpertemperatur betrug

am 23. Dez. 36,4°
„ 24. „ 38,6°
„ 25. „ 38,4°
„ 27. „ 38,7°
„ 28. „ 39,0°.

Am letztgenannten Tage wurde das Tier getötet und mit seinem Gehirn (Emulsion 1:15, davon 0.5 ccm) die Meerschweinchen 1738 und 1742 intraperitoneal infiziert. Während das 1. Tier am 4. Jan. 1919, ohne daß makroskopisch sichtbare Veränderungen später gefunden wurden, einging, machte das 2. nach 9-tägiger Inkubation ein 7-tägiges Fieber durch. Bei der späteren Immunitätsprüfung erwies es sich immun[1]).

Außer diesen Tieren (604 u. 802) sind noch einige andere Meerschweinchen direkt mit Blut vom fieberkranken Menschen in Wilna infiziert und später auf Immunität geprüft worden. Sie waren nur zum Teil immun. Allerdings liegen uns keine sicheren Kurven vor, aus denen ersichtlich wäre, ob diese Meerschweinchen eine Fieberreaktion durchgemacht haben. Es sind dies die Meerschweinchen No. 806, 807, 821 u. N. schw.

Auf den Verlauf der Infektionen bei den einzelnen Tieren der Passage A soll hier nicht näher eingegangen werden[2]). Das Krankheitsbild war dasselbe wie nach der Infektion mit Blut. Hier möchten wir uns darauf beschränken, einige Beobachtungen mitzuteilen, welche die früheren Mitteilungen von Otto und Dietrich über die Fleckfieberinfektion des Meerschweinchens ergänzen können.

Zunächst hat sich gezeigt, daß die Inkubation bei der Verimpfung von Gehirnemulsion im Durchschnitt etwas kürzer ist, als bei der Verwendung von Blut. Sie betrug bei intraperitonealer Applikation des Virus durchschnittlich 8, in der Regel 7—9 Tage, schwankte aber zwischen 5 und 12 Tagen[3]). Die Dauer der Inkubation war — wie dies schon Dörr und Pick gezeigt haben — unabhängig von der Infektionsdosis. Wenn man von den ersten Passagen absieht, ist eine Verkürzung der Inkubationszeit nach intraperitonealer Impfung im Laufe der Passage nicht zu erkennen. Bei der subkutanen Infektion[4]) und bei Tieren, die früher bereits mit anderweitigen intraperitonealen Injektionen vorbehandelt waren, auch bei intraperitonealer Infektion, dauerte die Inkubation etwas länger. Sie schwankte bei der subkutanen Infektion zwischen 6 und 14 Tagen und betrug im Durchschnitt etwa 10 Tage. Vielleicht ist bei der subkutanen Infektion eine Verkürzung der Inkubation im Laufe der Tierpassagen erkenntlich (vgl. Passage IX mit Passagen XVI—XX in Tab. I). In einem Falle, wo gleichzeitig mit der intraperitonealen Infektion 3 ccm Rekonvaleszentenserum subkutan verabreicht war, trat eine Verlängerung der Inkubationszeit um 3 Tage ein; zugleich wurde das Fieber unregelmäßig und bewegte sich nur auf geringer Höhe. (Bei der späteren Immunitätsprüfung zeigte das Tier keine sichere Immunität.) Einzelheiten über die Inkubationsdauer in den einzelnen Passagen sind aus Tab. I ersichtlich.

---

[1]) Dadurch, daß auch die nicht zu der vorliegenden Passagereihe Wilna A gehörenden Tiere (Meerschweinchen 1742 aus der Passage C, sowie die Tiere 806 und „Nase schwarz", die direkt mit dem Blut des Fleckfieberkranken infiziert waren), sich später (nach Ablauf ihrer Krankheit) gegen das Virus unseres Passagestammes Wilna A immun erwiesen, ist der Nachweis erbracht, daß in unserer Passage A nicht etwa irgendein unbekanntes Virus von dem Meerschweinchen 604 fortgezüchtet ist. Im übrigen wurden die aus unserer Passage stammenden Meerschweinchen auch immun befunden gegen einen Virusstamm, der von Herrn Dr. Kuczynski aus dem Blut eines Fleckfieberkranken im Rudolf Virchow-Krankenhause gezüchtet und uns freundlichst überlassen war.

[2]) Die Passagen wurden von uns in der Weise ausgeführt, daß das zur Weiterimpfung bestimmte Tier meist am 2. oder 3. Fiebertage durch Chloroform betäubt und dann seziert wurde. Zeigten Bauch- und Brusthöhle keine makroskopischen Veränderungen, so wurde das Gehirn steril entnommen und mit einem Glasstab in den zur Bereitung von Wutimpfstoff gebräuchlichen Gläsern verrieben. Alsdann erfolgte durch Zusatz von physiol. Kochsalzlösung (in der Regel 15 ccm) die Herstellung einer Emulsion. Vor der Verimpfung wurde dieselbe durch sterile Gaze filtriert.

[3]) Als Tag des Fieberbeginns wurde derjenige gerechnet, an dem die Körpertemperatur sich erstmalig zu einer während mehrerer Tage über 39° C verbleibenden Fieberkurve erhob.

[4]) Dörr u. Pick (12) fanden keinen Unterschied. Bei ihren Versuchen betrug die Inkubationszeit meist 5—8 Tage. 2 uns von Herrn Dr. Kuczynski überlassene Fleckfieberviruss tämme hatten bei subkutaner Infektion eine Inkubationszeit (Durchschnitt) von 9, bei intraperitonealer Infektion von 7 Tagen.

Die Fieberdauer bei den zum 1. Male infizierten, erkrankten und nicht eingegangenen Tieren betrug im Durchschnitt 9½ Tag. Sie schwankte zwischen 5 und 12 Tagen. Häufig folgte auf eine kurze Inkubation ein längeres, auf eine lange Inkubationszeit ein verhältnismäßig kurzes Fieber. Die Art der Fieberkurven wich von der nach Blutinfektionen auftretenden nicht wesentlich ab.

Ein Exitus letalis trat unter 49 normalen, d. h. zum 1. Mal infizierten Meerschweinchen, welche nicht vorzeitig zu Passagezwecken getötet wurden, im ganzen 16mal ein. Als ausschließliche Folge der Fleckfieberinfektion war er aber nur 9mal anzusprechen. Bei diesen 9 Tieren erfolgte der Tod zwischen dem 10. und 17. Tage nach der Infektion während der Fieberperiode. Bei den übrigen 7 Tieren, die vor Ausbruch des Fiebers oder im Zusammenhang mit einer auf Mischinfektion beruhenden Temperatursteigerung frühzeitig (1.—5. Tag) eingingen, wurde als Todesursache festgestellt: 4mal Komplikation mit Pneumonie, 1mal mit Pleuritis und Pericarditis, 1mal Dünndarmkatarrh. In dem 7. Falle waren keinerlei makroskopische Veränderungen nachweisbar. (Tod infolge giftiger Wirkung des Gehirnbreies?).

Unter 95 intraperitoneal infizierten Tieren blieb bei 4 jede Krankheitserscheinung aus. Das Tier 1620 ging am 44. Tage nach der Infektion, ohne Krankheitserscheinungen gezeigt zu haben, ein, während das gleichzeitig mit ihm und mit demselben Material geimpfte Meerschweinchen 1619 mit typischer Kurve erkrankte. 2 mit dem Gehirn des Tieres 1620 unmittelbar nach seinem Tode infizierte Meerschweinchen (No. 25 und 26) erkrankten nicht. In diesem Falle hat also wohl ein Versagen der Infektion beim Tier 1620 vorgelegen.

Bei Tier 1688 trat ebenfalls nach der Infektion mit Gehirnbrei von Tier No. 1669 kein Fieber ein, trotzdem das mit demselben Gehirnbrei infizierte Tier 1687 erkrankte. Bei der späteren Immunitätsprüfung erwies sich das Meerschweinchen 1688 als nicht immun. Also auch in diesem Falle ist ein Nichtangehen der intraperitonealen Infektion mit Gehirnbrei anzunehmen.

Außer diesen beiden Tieren erkrankten ferner 2 Tiere (No. 62 u. 63) nicht, die mit Gehirnbrei von dem Meerschweinchen 50 infiziert waren. Auch 2 gleichzeitig mit demselben Gehirnbrei subkutan infizierte Meerschweinchen zeigten keine oder nur zweifelhafte Fiebererscheinungen (Meerschweinchen 64 u. 65). In diesen Fällen ist es also nicht ausgeschlossen, daß der zur Verimpfung benutzte Gehirnbrei des Meerschweinchens 50 aus unbekanntem Grunde vielleicht nicht mehr infektiös war[1]). Da in allen anderen Fällen die Infektion sicher anging, so ergibt sich, daß die intraperitoneale Infektion unter 95 Fällen nur 2mal versagte. Man kann demnach behaupten, daß die Infektion mit Gehirnbrei eine in hohem Grade sichere ist. Das gleiche gilt auch für die subkutane Infektion mit Gehirnbrei, wenngleich unsere Erfahrungen hierüber weniger groß sind. Immerhin ging die Infektion nach subkutaner Verimpfung von Gehirn 19mal regelmäßig an, wenn man von den beiden obengenannten Tieren No. 64 und 65 absieht. Es ergeben sich also auf 114 intraperitoneale und subkutane Infektionen mit Gehirnbrei nur 2 Versager =

---

[1]) Eine Immunitätsprüfung hat in diesen Fällen nicht stattgefunden.

Tabelle

Inkubationsdauer bei intraperitonealer und subkutaner In-

Dosis (in ccm Blut bzw. g Organ)	Pas-										
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI
2,0	12.1)	8.2) 12.2)	.	.	.	.	.	.	.	.	.
0,75	.	10.3)	.	.	.	.	.	.	.	.	.
0,5	.	12. 9.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
0,3	.	10.4)	8.	.	.	.	.	.	.	.	.
0,225	.	.	.	8.	.	.	.	.	.	.	.
0,2	.	.	9.3)	.	.	.	6. 6.	.	11.7)	.	.
0,15	.	.	9.4)	7.	7.	8.	.	.	14.7)	8.	9.
0,12	.	.	.	.	.	.	.	.	.	5?	.
0,1	.	.		8.	.	9. 7.	7. 7.5)	9. 7. 7. 13. 7. 8.	9. 7. 9.7)	.	.
0,09	.	.	8.	.	.	.	.	.	.	.	.
0,075	.	.	8. 9.	.	.	.	10.6) 7. 9. 6.	.	.	12. 7. 7.	11? 7. 9.
0,06	.	.	.	.	.	.	.	.	10.7) 14.8)	7.	.
0,05	.	.	.	.	.	8.	.	.	.	.	.
0,04	.	.	.	.	.	.	7.	.	.	.	
0,03	.	.	.	.	.	.	.	.	11.7) 10.	.	.
0,02	.		.	.	.	.	.	.	.	.	.
0,01	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.

1) Blut vom fleckfieberkranken Menschen.
2) Diese 3 Infektionen erfolgten mit Blut vom Meerschweinchen.
3) Leberemulsion ip.
4) Lungenemulsion ip.

1,75 Proz. Dieses Resultat ist ein sehr günstiges. Rocha-Lima fand bei der Blutübertragung 12—24 Proz. refraktäre Tiere.

Auch bei den wenigen mit Blut (3), Leber- (4) oder Lungenbrei (2) infizierten Tieren trat regelmäßig eine Infektion ein.

In der Arbeit von Otto und Dietrich war bereits erwähnt, daß bei der 1. Verimpfung vom kranken Menschen auf Meerschweinchen die Infektion häufig nicht angeht. Auch Anderson fand, daß sich gegenüber Blut von menschlichen Fleckfiebererkrankungen 44 Proz. der Meerschweinchen refraktär verhielten, während sich durch ein durch Meerschweinchen fortgezüchtetes Virus nur 4,7 Proz. nicht infizieren ließen (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 63). Wir konnten dies wiederum bestätigen. Einmal erwies sich ein Teil der in Wilna mit Blut vom fleckfieberkranken Menschen geimpften Tiere später als nicht immun (vgl. oben), andererseits gelang es uns bei der Abimpfung von 3 verschiedenen Kranken des Rudolf Virchow-Krankenhauses in keinem Falle, eins der (zusammen 7) Meerschweinchen zu infizieren. Die Tiere erwiesen sich auch, soweit sie auf Immunität geprüft sind, später als nicht fleckfieberimmun.

Eingehende Untersuchungen über die Infektiosität der Ex- und Sekrete haben wir nicht angestellt. Versuche, welche früher schon von R. Otto und Dietrich mit dem Harn fleckfieberkranker Menschen angestellt waren, hatten kein sicheres Resultat ergeben. Wir haben daher einige Versuche mit dem Harn kranker Tiere neu ausgeführt. In unseren Fällen blieb wiederum eine Infektion aus. Soweit die Tiere auf Immunität geprüft wurden, konnte eine solche nicht nachgewiesen werden. Auch Paltauf und Löwy berichten

I.

fektion (wo nichts bemerkt: intraperitoneale Infektion mit Gehirnemulsion).

sage

XII	XIII	XIV	XV	XVI	XVII	XVIII	XIX	XX
.	.	.	.	.	12?^{2})	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.
	.	.	.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	10.^{7}) 7.^{7})	8.^{7}) 9.^{7})	10.^{7}) 9.^{7})	9.^{7}) 9.^{7}) 6.^{7}) 14.^{7})	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.
.	8. 8. 13.^{7})	10.^{7}) 8.^{7})	14.^{7}) 11.^{7})	5. 9. 8. 7.	8. 8.	.	.	6. 5. 8^{7})
.		.	.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.
8. 8. 7. 9. 9. 6.	11. 10. 6. 7. 6. 7. 7.	5. 8. 5? 12.	14. 10. 9.	8. 12?	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.
11.	.	.	.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.
7.	.	.	.	.	.	.	.	.
8.	.	.	.	.	.	.	.	.

5) Das Tier erhielt gleichzeitig 0,5 ccm Chininlösung subk.
6) Das Tier erhielt gleichzeitig 3,0 ccm Rekonvaleszentenserum subk.
7) Gehirnemulsion subk.
8) Leberemulsion subk.

über negative Ergebnisse. Da diesen die positiven Befunde von Kollert und Finger (15) gegenüberstehen, wären weitere Untersuchungen nach dieser Richtung sehr wünschenswert.

Eine Infektion trat auch nicht ein nach der Verimpfung von Gehirn, das 7 Tage im Eisschrank aufbewahrt war (1 Versuch) und nach Gehirn, das 10 Tage in Glyzerin gelegen hatte (1 Versuch)[1]. Ebenso erfolgte keine oder wenigstens keine sichere Infektion nach der Verimpfung des Abgusses von der zentrifugierten Gehirnemulsion (6 Versuche). Die Tiere zeigten zum Teil eine fragliche Fieberkurve. Eine Prüfung auf Immunität ist nur in 2 Fällen vorgenommen worden. In beiden Fällen erwiesen sich die mit Zentrifugenklar von Gehirnbrei vorbehandelten Tiere als nicht immun. In dem einen Falle muß es allerdings zweifelhaft erscheinen, ob der Gehirnbrei selbst infektiös war, da auch die mit Gehirnbrei infizierten Tiere nicht erkrankten (siehe oben).

Im Gegensatz zu den mit Gehirnbrei von normalen Tieren, mit X 19-Bazillen oder sonstigen Kulturen vorbehandelten Tieren, welche keine Immunität zeigten, trat bei fast allen Meerschweinchen, die auf die 1. intraperitoneale oder subkutane Infektion mit Fieber geantwortet hatten, eine deutliche Immunität gegen weitere Infektionen ein. Nur in 1 Falle ist trotz positiver Fieberreaktion auf die 1. Infektion bei der Prüfung (wiederholte Infektion) eine leichte Fieberreaktion nach verlängerter Inkubationszeit aufgetreten, die vielleicht mit auf eine gleichzeitig bestehende pleuritische

---

[1] Gelegentliche Versuchsergebnisse; systematische Untersuchungen haben wir bisher nicht ausgeführt.

Verwachsung zurückzuführen war[1]). Die Immunität war eine allgemeine. d. h. sie trat nach subkutaner Infektion auch gegenüber der späteren intraperitonealen und umgekehrt bei intraperitonealer Infektion gegenüber der subkutanen Reinfektion auf. Tiere, welche sich einmal als immun erwiesen hatten, wurden auch bei späteren Prüfungen regelmäßig wieder immun befunden. Dagegen erwiesen sich die Meerschweinchen, welche auf die 1. Infektion mit keinem oder zweifelhaftem Fieber reagiert hatten, bei der späteren Prüfung mit einer Ausnahme als nicht immun. In diesem Falle wurde ein subkutan infiziertes Tier trotz zweifelhafter Kurve später als immun befunden, ebenso wie das Schwestertier mit positiver Kurve. Nähere Einzelheiten ergibt die Tab. II.

Tabelle II.

Immunitätsprüfungen.

a) Meerschweinchen, welche mit **infektiösem Material von Meerschweinchen** vorbehandelt waren:

1) Vorbeh.: Intraper. Infekt. mit	Blut:	2,	davon 2 immun,	0 ?,	0 nicht immun,	0 †
„ „ „	Lunge:	1,	„ 1 „	0 „	0 „ „	0 †
„ „ „	Leber:	2,	„ 1 „	0 „	0 „ „	1 †
„ „ „	Gehirn:	10,	„ 7 „	1 „	1[2]) „ „	1 †
„ „ „ „ „	„ + Rek.-Ser. p. :	1,	„ 0 „	1 „[3])	0 „ „	0 †
2) Vorbeh.: Subkut. Infekt. mit	Gehirn:	5,	„ 4 „	0 „	0 „ „	1 †
	Summa:	21,	„ 15 „	2 „	1 „ „	3 †

b) Meerschweinchen, welche **mit Blut von fleckfieberkranken Menschen** vorbehandelt waren:

1) in Wilna infiziert (Kurven unbekannt):	4,	davon 2 immun,	0?,	2 nicht immun,	0 †
2) in Berlin infiziert (Kurven negativ) :	2,	„ 0 „	0?,	2 „ „	0 †
Summa:	6,	„ 2 „	0?,	4 „ „	0 †

c) Meerschweinchen, welche mit **Bakterien** vorbehandelt waren:

1) mit X 19-Bazillen :	7,	davon 0 immun,	0?,	7 nicht immun,	0 †
2) mit anderen Bakterien :	16,	„ 0 „	0?,	13 „ „	3 †
Summa:	23,	„ 0 „	0?,	20 „ „	3 †

d) Meerschweinchen, welche **anderweitig vorbehandelt** waren:

1) mit normalem Gehirn bzw. mit Gehirn von bakteriell infizierten Tieren :	4,	davon 0 immun,	0?,	3 nicht immun,	1 †
2) mit Gehirn von fleckfieberinfizierten Tieren, das 8 Tage im Eisschrank aufbewahrt war, oder mit Abguß (Zentrifugenklar) von Gehirnemulsion :	3,	„ 0 „	1?,	2 „ „	0 †
Summa:	7,	„ 0 „	1?,	5 „ „	1 †

Hinsichtlich der **pathologisch-anatomischen Befunde** ist zu bemerken, daß auch in diesen Passagenreihen bei den eingegangenen Tieren keinerlei charakteristische makroskopische Veränderungen zu erkennen waren. Bezüglich der mikroskopischen Befunde fiel es auf, daß sie, besonders im Gehirn, in den vorliegenden Versuchen zwar typisch, aber viel weniger deutlich ausgesprochen waren, als es **Otto** und **Dietrich** bei ihren Versuchen gesehen haben. Ob diese Erscheinung mit der

---

[1]) Bei 3 Tieren (siehe Tab. II) trat am 5.—6. Tage nach der Reinfektion der Exitus ein. Während bei dem einen eine Komplikation mit Seuche bestand, fanden sich bei beiden anderen keine makroskopischen Veränderungen. Es hat also wohl eine Giftwirkung des verimpften Hirnbreies (wie sie auch bei einigen Kontrolltieren vorkamen) vorgelegen.

[2]) Dieses Tier hatte bei der 1. Impfung keine Fieberreaktion gezeigt.

[3]) Dieses Tier hatte bei der 1. Impfung keine deutliche Fieberreaktion gezeigt (s. Text).

Virulenz des Stammes im Zusammenhang steht, vermögen wir nicht zu entscheiden [1]).

Wir haben an diese Möglichkeit gedacht, weil auch **Ritz** hervorhebt, daß Meerschweinchen, die in den ersten Tagen nach dem Temperaturanstieg getötet waren, keine pathologisch-anatomischen Veränderungen zeigten, obgleich ihr Blut infektlöser war, als dasjenige von Tieren am Schlusse der Fieberreaktion. Da auch **Otto** und **Dietrich** bei einem Meerschweinchen, das nach der Infektion mit (rikettsienhaltigen) Läusen eingegangen war, pathologisch-anatomische Veränderungen im Gehirn des Tieres vermißten, so scheint es, daß wenigstens die Herdbildungen im Gehirn beim Meerschweinchen nach dem Eingehen der Tiere an Fleckfieber weniger deutlich ausgeprägt sein können, als dies nach den Befunden von **Otto** und **Dietrich** zunächst zu erwarten war.

Im Laufe der Passagen wurden auch diesmal von uns **Mischinfektionen** beobachtet. Wie bereits eingangs erwähnt, konnte von uns aber nachgewiesen werden, daß diese lediglich von dem schlechten Tiermaterial ausgingen. Aehnlich wie die Zahl der Tuberkulosekranken unter den Menschen infolge der ungünstigen Ernährungsverhältnisse während des Krieges sichtlich zugenommen hat, scheint auch die Verbreitung der Tierseuchen unter den Versuchstieren infolge der mangelhaften Ernährung gesteigert zu sein. Trotzdem wir regelmäßig auf die Auswahl gesunder Tiere besonderen Wert legten, fanden sich doch ab und zu immer wieder latent kranke Tiere, deren Kranksein erst nach der Impfung durch frühzeitige Fiebersteigerungen erkenntlich wurde. Beobachtungen derartiger latenter Infektionen, die bei Impfungen und Immunisierungen aufgedeckt werden, sind nicht neu. Besonders bei der Immunisierung von Kaninchen sind sie den Immunitätsforschern bekannt. Bei den vorliegenden Fleckfieberversuchen war aber die Zahl der mit Seuchen und chronischen Krankheiten behafteten Meerschweinchen jedenfalls viel größer, als wir es zu Friedenszeiten zu sehen gewohnt sind.

Um etwaige bakterielle Mischinfektionen rechtzeitig zu erkennen, haben wir bei unseren Passagen in letzter Zeit jedesmal 1—2 voraussichtlich immune Tiere mitinfiziert. Wenn auch diese Reaktionen zeigten, so ist damit von vornherein ein Hinweis gegeben, daß das Infektionsmaterial wahrscheinlich nicht einwandfrei ist.

Zusammenfassend ziehen wir aus unseren Versuchen den Schluß, daß sich die Empfänglichkeit des Meerschweinchens für das Fleckfiebervirus wieder bestätigt hat, und daß zur experimentellen Infektion der Tiere die Verimpfung von Gehirnbrei sehr geeignet ist.

Literatur.

1) **Otto** u. **Dietrich**, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 82. H. 5.
2) v. **Prowazek**, Beitr. z. Kl. d. Inf.-Krankh. 1914. H. 1.
3) da **Rocha-Lima**, München. med. Wochenschr. 1916.
4) **Loewy**, Wien. klin. Wochenschr. 1916 u. 1919 No. 18.
5) **Toepfer**. Berlin. klin. Wochenschr. 1916.
6) **Nöller**, Berlin. klin. Wochenschr. 1916.
7) **Paltauf**, Verhandl. Warschau. 1916.
8) Zit. nach **Rocha-Lima**.
9) **Ritz**, Deutsch. med. Wochenschr. 1918.
10) **Landsteiner** u. **Hausmann**, Med. Klin. 1918. No. 21.
11) **Werner** u. **Leoneanu**, Münch. med. Wochenschr. 1918.
12) **Dörr** u. **Pick**, Wien. klin. Wochenschr. 1918. No. 30.
13) **Möllers** u. **Wolff**, Deutsch. med. Wochenschr. 1919. No. 13.
14) **Nicolle** u. **Blaizot**, Refer. Münch. med. Wochenschr. 1916. S. 19.
15) **Kollert** u. **Finger**, Verhandl. Warschau 1916.

---

[1] Herrn Dr. **Kuczynski**, welcher die Freundlichkeit hatte, das Sektionsmaterial durchzuarbeiten, sind wir zu Dank verpflichtet.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen zur Aetiologie und Biologie der Tumoren.

XXII. Mitteilung[1]).

(Condyloma acuminatum. — Verruca vulgaris. — Cholesteatom.)

Von Dr. **E. Saul**, Berlin.

Mit 15 Figuren im Text.

Der beständige Verbrauch und Wiederersatz der Epidermisepithelien, der Schleimhautepithelien, der Drüsenepithelien, die Heilung umfangreicher Wunden der Haut und der Muskulatur, sowie die Entwicklung kompensatorischer Hypertrophien lehren, daß somatische Zellen den zur Tumorbildung notwendigen Grad der Vermehrungsfähigkeit a priori besitzen. Indessen handelt es sich bei den genannten Prozessen um hyperplastische Erscheinungen, an denen die regionären Zellen gleichmäßigen Anteil haben. Der hyperplastische Prozeß, auf dem die Tumorgenese beruht, gewinnt dadurch einen besonderen Charakter, daß er von einer einzelnen Zelle, der Tumormutterzelle, seinen Ausgang nimmt, wie ich in meiner XX. Mitteilung ausführlich darlegte; den in Betracht kommenden biologischen Vorgang habe ich parthenogenetische Entwicklungserregung fixer Gewebselemente genannt. Es liegt im Wesen der parthenogenetischen Entwicklungserregung begründet, daß sie in Abwesenheit des Reizes, der sie ausgelöst hat, fortwirkt.

Die Kasuistik lehrt, daß Reize, die chronische Entzündungen erregen, neben den entzündlichen Erscheinungen Tumoren hervorrufen können, und zwar gehen die Entzündungskrankheiten den Tumorkrankheiten voran. Der Gegensatz zwischen entzündlicher und blastomatöser Reizung beruht daher nicht auf Verschiedenheiten der Aetiologie, sondern auf Verschiedenheiten der biologischen Reaktion. Wie chronische Entzündungen verursacht werden durch parasitäre Gifte, durch präformierte Gifte, durch photochemische, thermische und traumatische Schädlichkeiten, sowie durch Stoffwechselprodukte des Entzündungskranken, so können dieselben Reize Tumoren veranlassen. Je nach der individuellen Disposition schwankt die Gutartigkeit oder Bösartigkeit der Tumorkrankheiten, ebenso wie diejenige der Entzündungskrankheiten, in weiten Grenzen. Die Untersuchungen von Fibiger[2]), Goebel[3]), Lubarsch[4]), Ribbert[5]) u. a. lehren, daß die Gifte einiger Entzündungserreger, z. B. das Gift des Bilharzia-Wurmes und dasjenige des Tuberkelbazillus, relativ häufig Tumoren, insbesondere Karzinome hervorrufen, während z. B. das Gift des Leprabazillus für die Tumorätiologie erfahrungsgemäß keine Bedeutung besitzt. Da im allgemeinen nur ein geringer Prozentsatz der Individuen, die tumorerregenden Reizen preisgegeben sind, mit

---

[1]) Vgl. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 82. 1918. S. 270 usw.

[2]) Zeitschr. f. Krebsforsch. Bd. 13. 1913. u. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. 1918; Bd. 81 (Ditlevsen).

[3]) Deutsch. Zeitschr. f. Chir. Bd. 66. 1903. u. Zeitschr. f. Krebsforsch. Bd. 3. 1905.

[4]) Virch. Arch. Bd. 111. 1888. S. 305.

[5]) Münch. med. Wochenschr. No. 17. 1894. u. Virch. Arch. Bd. 135. 1894.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Tumorbildung reagiert, so tritt die Bedeutung der Disposition für die Genese der Tumoren klar zutage. Wie jede Krankheitsdisposition, so beruht die Disposition zu Tumorkrankheiten auf der Organisation und dem Chemismus der Zellen; sie ist ererbt oder erworben; sie ist eine veränderliche Größe; sie zeigt das Maß der Widerstandskraft an, die einzelne Organe, bzw. einzelne Organteile, bzw. einzelne Zellen[1]) gegen gegebene tumorerregende Reize besitzen.

An Hand der folgenden Photogramme möchte ich erläutern:

1) Die Aetiologie und Biologie des Condyloma acuminatum.
2) „ „ „ „ der Verruca vulgaris.
3) „ „ „ „ des Cholesteatoms (Cholesteatoma spurium. Cholesteatoma verum. Plexus-Cholesteatom).

Fig. 1. Schnittpräparat eines Condyloma acuminatum. Gieson-Färbung. Vergrößerung 1:30.

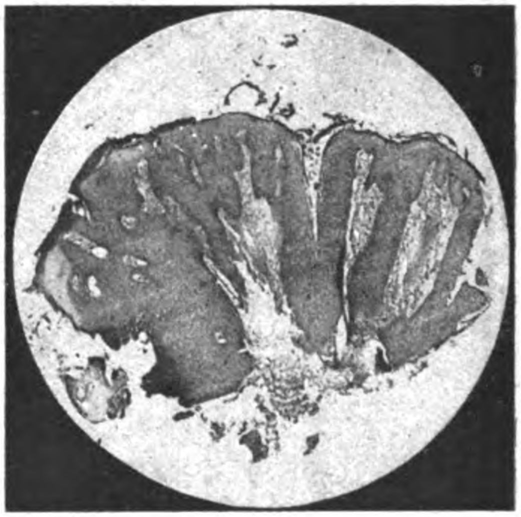


Fig. 1.

Man erkennt im Uebersichtsbild, daß der genannte Tumor aus Wucherungen des Epidermisepithels und des Papillarkörpers der Cutis resultiert. Das Condyloma acuminatum ist daher als Fibroepitheliom zu bezeichnen. Während bei der Verruca vulgaris die proliferierten Epithelien in allen Schichten der Epidermis verhornen, wie die folgenden Abbildungen lehren, entspricht das Stratum corneum im Bereiche des Condyloma acuminatum normalen Verhältnissen. Dagegen zeigt das Stratum germinativum des Condyloma acuminatum eine so enorme Entwicklung, daß es den wesentlichsten Teil der Neubildung darstellt. Die Papillen des Condyloma acuminatum erscheinen in iher Höhe und Verzweigung außerordentlich entwickelt, so daß sie an einzelnen Stellen das Stratum corneum der Epidermis fast erreichen. Die äußere Furchung des Condyloma acuminatum beruht auf dem mehr oder weniger tiefen Herabsteigen des Stratum corneum in die Zentren der Epithelleisten. Ebenso wie das Karzinom und das Sarkom besitzt das Condyloma acuminatum gewisse Prädilektionsstellen; es wird am häufigsten im Sulcus coronarius des Mannes und im Vestibulum vaginae des Weibes gefunden. Ebenso wie das Karzinom und das Sarkom besitzt das Condyloma acuminatum die Fähigkeit, rapid zu wachsen und zu rezidivieren; indessen zeigt es kein infiltrierendes Wachstum und keine Tendenz zu metastasieren. Eine spontane Rückbildung, wie sie bei der Verruca vulgaris als Folge fortschreitender Verhornung regelmäßig beobachtet wird, bietet das Condyloma acuminatum niemals dar. — Es ist historisch interessant, daß Virchow[1]) in der Cellularpathologie berichtet, Dieffenbach habe in einem Falle von Condyloma acuminatum die Amputation des Penis in der Meinung vorgenommen, es handle sich um Karzinom; er war getäuscht worden durch das rapide und rezidivierende Wachstum des Condyloma acuminatum. Die histologischen Kriterien der Malignität waren den damaligen Klinikern nicht bekannt.

---

[1]) Die Bedeutung, welche die Zelldisposition für die Genese des Karzinoms besitzt, ist insbesondere aus der Kasuistik des Rußkrebses und des Paraffinkrebses ersichtlich; denn erfahrungsgemäß sind nur die Zellen der Scrotalhaut disponiert, gegen den Reiz des Rußes und des Paraffins karzinomatös zu reagieren. Unter den von Fütterer zitierten 53 Fällen von Ruß- und Paraffinkrebs war nur in einem Falle von Paraffinkrebs nicht die Scrotalhaut, sondern die Haut des Ellenbogens karzinomatös erkrankt. (Vgl. Fütterer, Die Aetiologie des Karzinoms, Wiesbaden 1901. S. 45 ff.)

Fig. 2. Dasselbe Präparat in starker Vergrößerung. 1 : 200.

Im Bereiche des Condyloma acuminatum sind die Lymphspalten des Stratum germinativum stark erweitert, das Bindegewebe der Cutispapillen ödematös gelockert, die Kapillaren der letzteren erreichen den Umfang kutaner Venen. Die Abbildung läßt den aufsteigenden und absteigenden Kapillarschenkel in den Cutispapillen des Condyloma acuminatum erkennen. Gelegentlich ist der Papillarkörper der Cutis im Gebiete des Condyloma acuminatum kleinzellig infiltriert; die kleinzellige Infiltration kann vom Stratum papillare der Cutis bis in das Stratum germinativum der Epidermis hinein sich erstrecken.

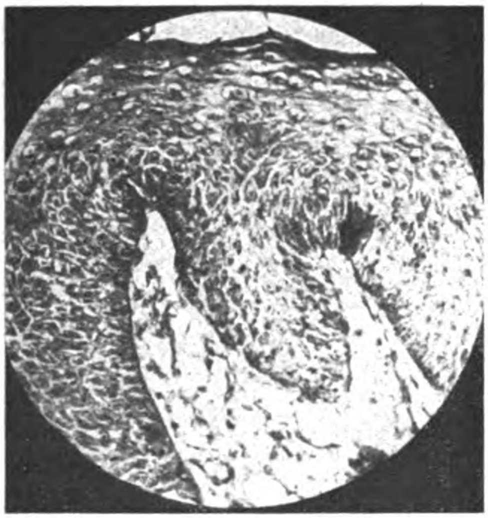


Fig. 2.

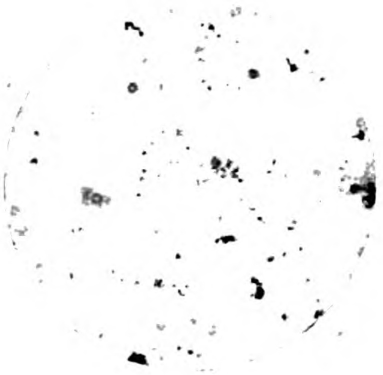


Fig. 3.

Fig. 3. Ausstrichpräparat eines Condyloma acuminatum. Färbung mit Karbolfuchsin. Vergrößerung 1 : 1000.

Das Gesichtsfeld zeigt neben histologischen Elementen Kokken, die kurze Ketten bilden. Diesen Befund habe ich in Ausstrichpräparaten des Condyloma acuminatum regelmäßig erhoben. In Schnittpräparaten können die Streptokokken des Condyloma acuminatum von histologischen Zellderivaten nicht unterschieden werden. Da Streptokokken auch als Erreger der Verruca vulgaris in Betracht kommen, wie ich in meiner XXI. Mitteilung dargelegt habe, so dürften das Condyloma acuminatum und die Verruca vulgaris eine gemeinsame Aetiologie besitzen. Diese Auffassung wird durch klinische und experimentelle Erfahrungen erhärtet. Z. B. fand Thibièrge[2]) bei 25 Proz. seiner Patienten, die an

---

1) Virchow, Die Cellularpathologie. 4. Aufl. 1871. S. 553.
2) Annal. de Dermat. 1906.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

spitzen Kondylomen litten, gleichzeitig Verrucae vulgares. Waelsch[1]) und Fantl[1]) impften Teile eines spitzen Kondyloms auf die Beugeseite ihres linken Vorderarmes und auf das Genitale einer Virgo intacta. Die Inkubation betrug 2 ½—9 Monate. Die experimentell hervorgerufenen Tumoren der Vorderarme waren Warzen, während auf dem Genitale der Virgo intacta ein typisches Condyloma acuminatum entstand. Da Streptokokken für die Aetiologie des Condyloma acuminatum in Betracht zu ziehen sind, wie bereits Billroth[2]) bekundet hat, so wird erklärlich, daß wir dasselbe im Gefolge entzündlicher Erkrankungen des Genitale, wie Balanitis, Urethritis, Vulvitis, Vaginitis auftreten sehen. Indessen sind die genannten entzündlichen Erkrankungen des Genitale keineswegs regelmäßig durch Erkrankung an Condyloma acuminatum kompliziert. Daher tritt auch für die Genese dieses Tumors die individuelle, lokale Disposition in den Vordergrund.

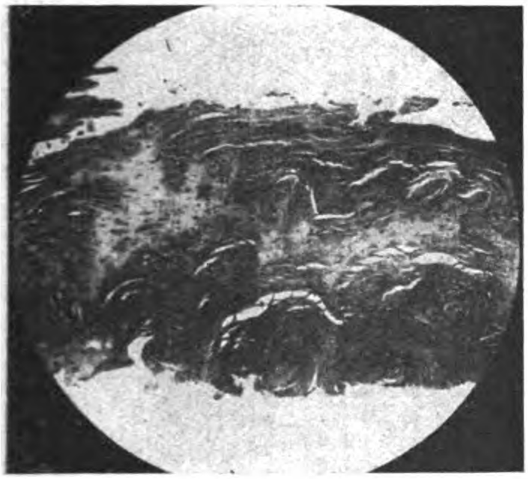


Fig. 4.

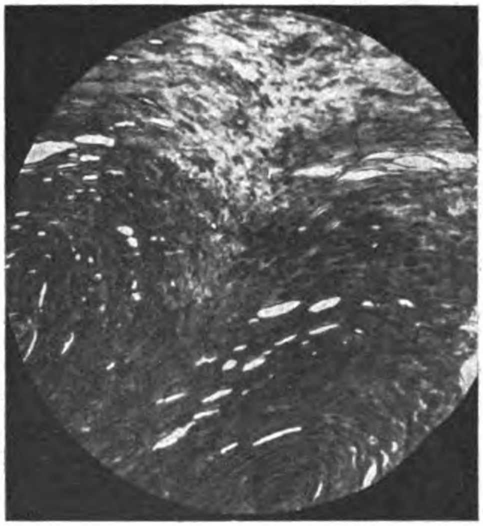


Fig. 5.

Fig. 4. Schnittpräparat einer Verruca vulgaris. Gieson-Färbung. Vergrößerung 1 : 40.

Die Abbildung lehrt, daß der Papillarkörper der Cutis an dem tumorbildenden Prozeß, welcher der Verruca vulgaris zugrunde liegt, keinen Anteil hat. Die Verruca vulgaris stellt ein Epitheliom im strengsten Sinne des Wortes dar, während das Condyloma acuminatum als Fibroepitheliom zu bezeichnen ist, wie bereits erwähnt wurde. Unter dem Druck der verhornten Epidermismassen, welche die Verruca vulgaris zusammensetzen, erscheinen die Cutispapillen breitgedrückt (pseudohypertrophisch); ihre Zahl ist erheblich verringert, weil die weniger widerstandsfähigen Papillen im Gebiete der Verruca vulgaris zur Fläche ausgeglichen sind. So lange die epidermidale Decke des Papillarkörpers ihre Kontinuität bewahrt, besitzt die Verruca vulgaris eine regelmäßige, nicht zerklüftete Oberfläche.

---

1) Arch. f. Dermat. Bd. 124. 1918.

2) Ueber die Einwirkungen lebender Pflanzen- und Tierzellen aufeinander. Wien 1890. S. 33.

Fig. 5. Dasselbe Präparat in starker Vergrößerung (1 : 200).

Die Epithelien der Verruca vulgaris dringen niemals tief in die interpapillären Schichten der Cutis; sie bilden daher zwischen den Papillen einen kurzen, spitzen Keil. Hat die Verruca vulgaris den Zustand der Reife überschritten, so ruht die Zellproliferation des Stratum germinativum, während die Verhornung der Epithelien fortschreitet; infolgedessen besitzt die Verruca vulgaris schließlich nur ein Stratum corneum. In Fig. 5 erscheinen die Epithelien des Stratum germinativum noch in spärlichen Resten; sie sind klein und liegen dicht aneinandergedrängt an der Cutisgrenze.

Fig. 6. Ausstrichpräparat einer Verruca vulgaris. Färbung mit Karbolfuchsin. Vergrößerung 1 : 1000.

Neben histologischen Elementen erkennt man Kokken, die kurze Ketten bilden. Diese Streptokokken konnte ich in der Verruca vulgaris regelmäßig nachweisen; gelegentlich fand ich sie in großen Mengen und in Reinkultur, wie Fig. 6 lehrt. In Schnittpräparaten können sie von histologischen Zellderivaten der Verruca vulgaris nicht unterschieden werden. Die Streptokokken durchdringen das Berkefeld-Filter; sie werden daher in dem Sediment des Berkefeld-Filtrates nachgewiesen, das man von dem Tumorbrei der Verruca vulgaris gewinnt. In diesem Zusammenhange ist hervorzuheben, daß Ciuffo[1]) und Serra[2]) mit dem Berkefeld-Filtrat der Verruca vulgaris experimentell Warzen hervorgerufen haben. Die Frage, ob es sich dabei um Infektion oder Transplantation oder Transplantation mit Infektion gehandelt habe, ist in diesem Falle gegenstandslos, weil Tumorzellen das Berkefeld-Filter erfahrungsgemäß nicht durchdringen, wie übereinstimmend alle Autoren bekunden.

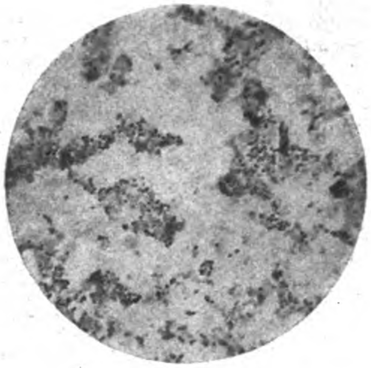


Fig. 6.

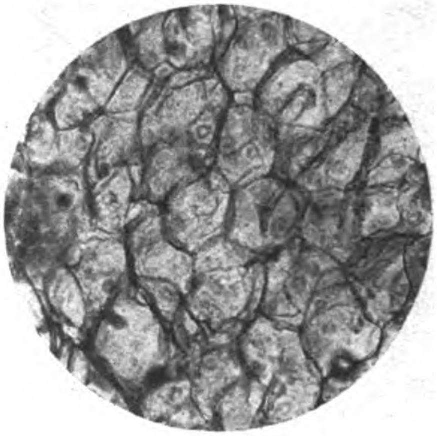


Fig. 7.

Ich komme nun zu einer anderen Gruppe epithelialer Neubildungen, zu den Cholesteatomen. Wie Virchow[3]) in der Cellularpathologie bekundet, sind die Cholesteatome insofern den Kankroiden zuzurechnen, als sie aus verhornenden Plattenepithelien zusammengesetzt sind und

---

1) Giorn. ital. d. mal. ven. 1907.

2) Ebenda. 1908.

3) l. c. S. 565 ff.

infiltrierend und rezidivierend wachsen; die Cholesteatome sind insofern von den Kankroiden verschieden, als sie nicht metastasieren.

Fig. 7. Schnittpräparat eines Cholesteatoms der Paukenhöhle. (Cholesteatoma spurium.) Gieson-Färbung. Vergr. 1:500.

Die Abbildung lehrt, daß das Cholesteatom der Paukenhöhle aus polyedrisch geformten Plattenepithelien zusammengesetzt ist; infolge der eingetretenen regressiven Metamorphose besitzen sie nur noch spärliche Kernreste. Die zuerst von Johannes Müller gewählte Bezeichnung „Cholesteatom“ ist insofern unzweckmäßig, als wir die in den Cholesteatomen auftretenden Cholesterinkristalle keineswegs ausschließlich in Cholesteatomen finden. Da der Perlmutterglanz, der durch die Transparenz der Cholesteatomepithelien hervorgerufen wird, nur den Cholesteatomen eigentümlich ist, so nannte sie Cruveilhier „Tumeur perlée“ (Perlgeschwulst). Virchow wählte die synonyme Bezeichnung „Margaritom“.

Fig. 8. Ausstrichpräparat eines Cholesteatoms der Paukenhöhle. Färbung mit Karbolfuchsin. Vergr. 1:1000.

Die Plattenepithelien des Cholesteatoms sind durch Kittsubstanz miteinander verbunden. Waldeyer[1]) bekundet, daß die angebliche Kittsubstanz epithelialer Gewebe durch lymphatische Flüssigkeit vorgetäuscht werde, welche die Lücken zwischen den Epithelien ausfüllt. Die Morphologie der Cholesteatome lehrt, daß diese Auffassung nicht zutreffend ist. Die Epithellamellen der Cholesteatome können nur dadurch entstehen, daß die Cholesteatomepithelien durch kohärente Kittsubstanz miteinander verbunden werden. Fig. 8 läßt an den Stellen, wo die Kontinuität des Cholesteatomgefüges durch ein Artefakt unterbrochen ist, erkennen, daß die Kittsubstanz fest an der Kontur der Cholesteatomepithelien haftet. Das Paukenhöhlencholesteatom entsteht im Gefolge chronischer Otitis media purulenta. Wir müssen deshalb voraussetzen, daß das Gift der betreffenden Entzündungserreger proliferierend auf die Epithelien des Gehörorgans wirkt; und zwar sind nach den Untersuchungen Habermanns[2]) nicht die Epithelien der Paukenhöhle, sondern die Epithelien des äußeren Gehörganges die Mutterzellen des Paukenhöhlencholesteatoms. Sie dringen bei ihrer Proliferation durch Defekte des Trommelfells in die Paukenhöhle, um daselbst die Cholesteatommassen zu formieren. Es ist hervorzuheben, daß die Otitis me-

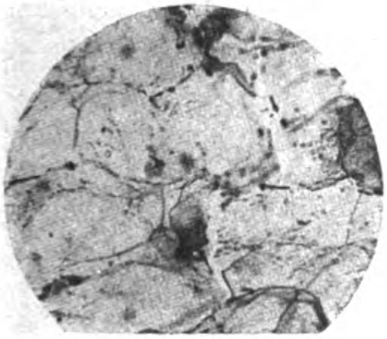


Fig. 8.

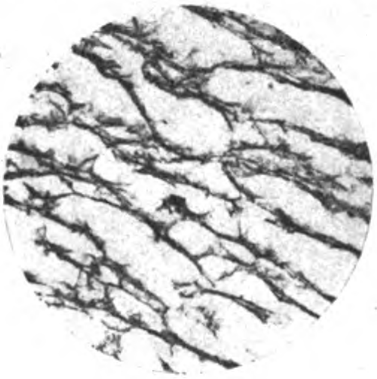


Fig. 9.

---

[1]) Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. 86. 1900.

[2]) Arch. f. Ohrenheilkde. Bd. 27. 1889.

dia purulenta keineswegs regelmäßig durch Erkrankung an Paukenhöhlencholesteatom kompliziert wird. Auch für die Genese des Paukenhöhlencholesteatoms besitzt daher die individuelle, lokale Disposition entscheidende Bedeutung. Die Entzündungserreger, die für die Aetiologie des Paukenhöhlencholesteatoms in Betracht kommen, können weder in Schnittpräparaten, noch in Ausstrichpräparaten von histologischen Zellderivaten der Cholesteatomepithelien unterschieden werden.

Fig. 9. Schnittpräparat eines Cholesteatoma verum. Gieson-Färbung. Vergr. 1 : 500.

Das Cholesteatoma verum nimmt von der Pia, bzw. der Arachnoidea des Gehirnes oder Rückenmarkes seinen Ursprung. Boström[1]) hat nachgewiesen, daß die Mutterzellen des Cholesteatoma verum epidermoidale Zellen sind, von denen wir voraussetzen müssen, daß sie während der embryonalen Entwicklung in das Zentralnervensystem versprengt wurden. Ebenso wie das Paukenhöhlencholesteatom, setzt sich das Cholesteatoma verum aus polyedrisch geformten Plattenepithelien zusammen, die infolge der eingetretenen regressiven Metamorphose nur noch spärliche Reste des ursprünglichen Zellinhaltes besitzen. Da exogene Ursachen, wie parasitäre Gifte oder präformierte Gifte für die Aetiologie des Cholesteatoma verum nicht in Betracht kommen, so müssen wir folgern, daß es durch Stoffwechselgifte des Cholesteatomträgers hervorgerufen wird. Ich habe bereits in meiner XX. Mitteilung erörtert, daß versprengte Keime, ebenso wie Naevi und ähnliche Abnormitäten, in hohem Maße disponiert sind, gegen endogene und exogene tumorerregende Reize mit Tumorbildung zu reagieren. Obgleich das Cholesteatoma verum aus embryonal versprengten Epidermiskeimen hervorgeht, ist es noch niemals bei Neugeborenen beobachtet worden. Das Cholesteatoma verum entsteht im allgemeinen erst im 4. Lebensjahrzehnt.

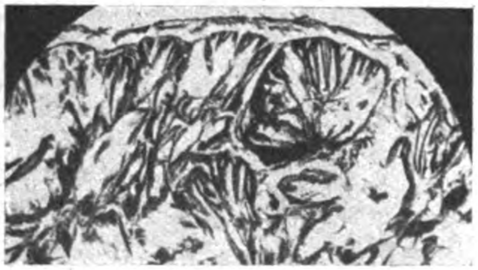


Fig. 10.

Zu den genannten Cholesteatomen kommt noch das Cholesteatom der zerebralen Adergeflechte, das sogen. Plexuscholesteatom, das bei Menschen selten, bei Pferden häufig gefunden wird. Schmey[2]) konstatierte es bei 50 Proz. aller geschlachteten Pferde.

Fig. 10. Schnittpräparat eines zerebralen Plexuscholesteatoms (Pferd). Gieson-Färbung. Vergr. 1 : 40.

Das Uebersichtsbild lehrt, daß das Plexuscholesteatom sich aus strukturlosen Septen zusammensetzt. Die Intervalle zwischen den Septen sind in vivo mit Cholesterinkristallen ausgefüllt, wie an Gefriermikromschnitten nachgewiesen werden kann. Nach der Einbettung in Paraffin oder Celloidin ist das Cholesterin in den Präparaten nicht mehr vorhanden, weil es sich sowohl in Alkohol wie in Xylol löst. Der Veterinärpathologe Joest[3]) hat hervorgehoben, daß die Hülle des Plexuscholesteatoms von der Wandung eines thrombosierten Gefäßes gebildet wird. Ich lasse unentschieden, ob es sich in dem vorliegenden Falle

---

1) Centralbl. f. allgem. Pathol. Bd. 8. 1897.
2) Arch. f. Tierheilk. Bd. 36. 1910. S. 123.
3) Zeitschr. f. Tiermed. Bd. 18. 1915.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

um ein thrombosiertes Blutgefäß oder um ein thrombosiertes Lymphgefäß handelt. Demgemäß können die geronnenen, strukturlosen Stränge, welche die Septen des Plexuscholesteatoms bilden, als Blutgerinnsel oder als Lymphgerinnsel gedeutet werden.

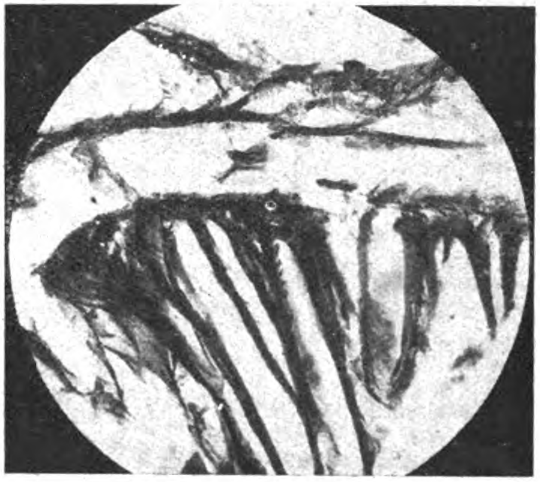


Fig. 11.

Fig. 11. Dasselbe Präparat in starker Vergrößerung. 1 : 200.

Man unterscheidet an der Gefäßwand, die das Plexuscholesteatom einhüllt, Adventitia, Media und Intima. Die Intervalle zwischen den geronnenen Massen des Thrombus entsprechen in ihrer Konfiguration den rhombischen Formen der Cholesterinkristalle, die in den Intervallen lagen. Da wir eine so erhebliche Ausscheidung von Cholesterin bei Erkrankungen anderer Gefäßgebiete nicht wahrnehmen, so müssen wir folgern, daß sie durch den Chemismus des Plexusgewebes bedingt wird. Nicht nur im Gehirn und Rückenmark, sondern auch in anderen Organen, die reich an Cholesterinverbindungen sind, findet im Gefolge pathologischer Prozesse erhebliche Cholesterinausscheidung statt; es sei nur an die Cholesterinausscheidung erinnert, die bei entzündlichen Erkrankungen der Gallenblase auftritt und die Cholesterinsteine der Gallenblase hervorruft. Emmerich[1]) und Wagner[1]) berichten, daß 8 von

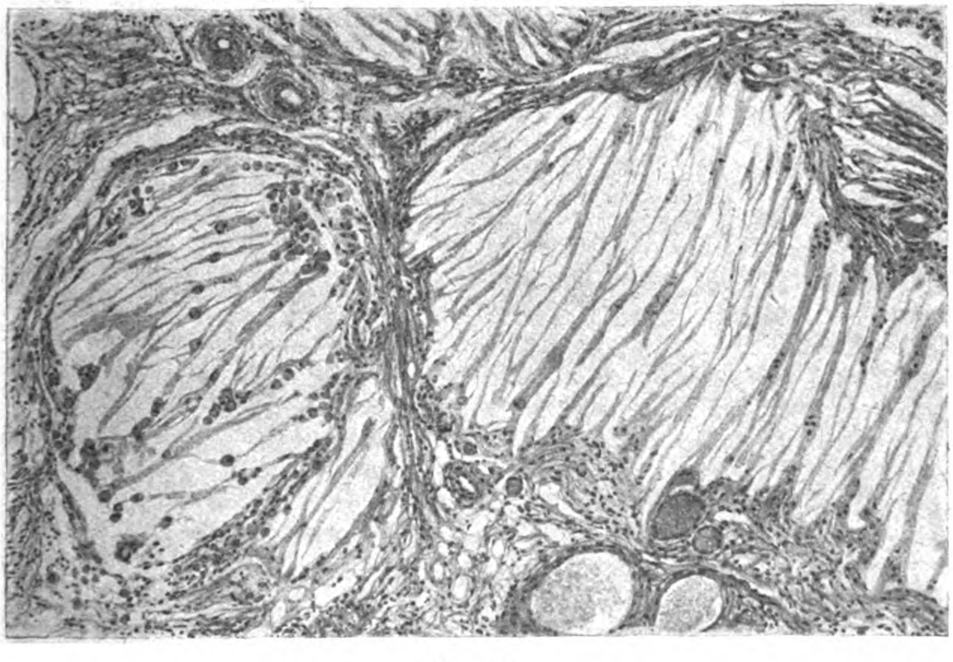


Fig. 12.

---

[1]) Centralbl. f. allgem. Path. Bd. 27. 1916. No. 19.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

10 Kaninchen, die intravenös mit Typhusbazillen geimpft waren, bei der Sektion neben Cholecystitis Gallensteine darboten. Ebenso lehren Versuche von Versé[1]), daß die Kaninchen bei experimentell hervorgerufener Cholesterinämie nur dann Gallensteine erwerben, wenn die Gallenblase entzündlich erkrankt ist. Die Experimente von Emmerich, Wagner und Versé sind für die Deutung der Cholesterinausscheidung in den Plexuscholesteatomen, als Folge arteriitischer, bzw. phlebitischer oder lymphangitischer Erkrankungen des Plexusgewebes von prinzipieller Bedeutung.

Fig. 12. Schnittpräparat eines zerebralen Plexuscholesteatoms (Pferd). Nach Joest[2]). Gieson-Färbung. Vergr. 1:40.

Die Zartheit der Septen, welche die Intervalle des Plexuscholesteatoms in diesem Falle begrenzen, veranlaßte Joest, sie als geronnene Lymphe und demgemäß die Hülle des betreffenden Plexuscholesteatoms als Wandung von Lymphgefäßen zu deuten. Auf den Septen erscheinen einzeln oder in kleinen Gruppen Zellen mit wandständigem oder zentralem Kern; sie werden wegen der schaumigen Struktur ihres Protoplasmas als Schaumzellen bezeichnet.

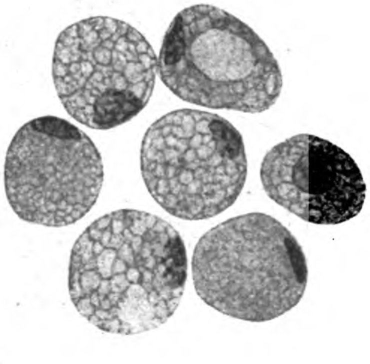


Fig. 13.

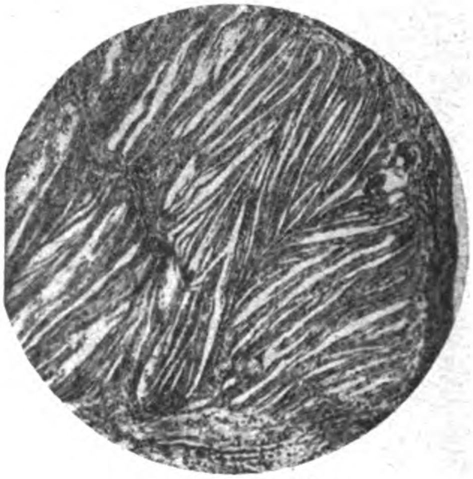


Fig. 14.

Fig. 13. Isolierte Schaumzellen eines zerebralen Plexuscholesteatoms (Pferd). Nach Joest. Färbung mit Hämatoxylin-Eosin. Vergr. 1:400.

Die Schaumzellen können von Lymphozyten, von Endothelzellen, von fixen Bindegewebszellen oder von diesen drei Zellkategorien stammen. Wie L. Pick[3]) nachwies, wird ihre Schaumstruktur durch Einlagerung von Cholesterinfettsäure-Ester bedingt; und zwar ist nach den Untersuchungen von Pringsheim[4]) die für die Schaumzellen in Frage kommende Fettsäure hauptsächlich als Oelsäure zu bezeichnen. Da die Cholesterinverbindungen im Organismus des Menschen und der Tiere weit verbreitet sind, so liegt keine Veranlassung vor, nach dem Vorgange von Schmey[5]) den Cholesteringehalt der zerebralen Plexus-

---

1) Beitr. z. path. Anat. Bd. 63. 1917. — Festschr. f. Marchand.
2) l. c.
3) Deutsch. med. Wochenschr. 1908. No. 33. Vereinsbeil.
4) Ebenda. 1908. No. 49. Vereinsbeil.
5) l. c.

cholesteatome ausschließlich auf die Schaumzellen zu beziehen. Schmey vermutet, daß nach dem Zerfall der Schaumzellen die in ihnen eingelagerten Cholesterinfettsäure-Esterverbindungen in ihre Komponenten, in Cholesterin und Fettsäure, gespalten werden. Es ist durchaus möglich, daß dieser Modus der Cholesterinausscheidung stattfindet; es liegt aber, wie bereits erwähnt wurde, keine Veranlassung vor, die Schaumzellen als die alleinige Quelle für das Cholesterin der Plexuscholesteatome zu bezeichnen.

Fig. 14. Schnittpräparat eines zerebralen Plexuscholesteatoms. Vergrößerung 1 : 25.

Der Thrombus des Plexuscholesteatoms hat sich bindegewebig organisiert. In dem Maße, wie seine Organisation fortschreitet, schwinden die Cholesterinkristalle. Hat die Entwicklung des Plexuscholesteatoms diese Phase erreicht, so kann es als Granuloma cholesterinicum bezeichnet werden, wie bereits Schmey[1]) bekundet hat. Der Name Cholesteatom wird für die Plexuscholesteatome zu Unrecht gebraucht, weil nach dem Vorgange von Johannes Müller als Cholesteatome lediglich epitheliale Neubildungen zu betrachten sind, die Cholesterinkristalle enthalten.

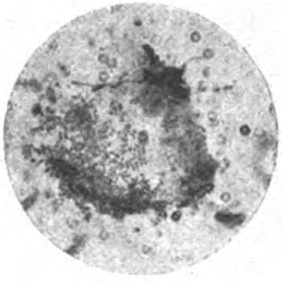


Fig. 15.

Fig. 15. Ausstrichpräparat eines zerebralen Plexuscholesteatoms (Pferd). Färbung mit Karbolfuchsin. Vergr. 1 : 650.

Das Gesichtsfeld zeigt neben histologischen Elementen zahlreiche Kokken, die kurze Ketten bilden. Diesen Befund konnte ich in allen untersuchten Fällen von zerebralem Plexuscholesteatom des Pferdes erheben. In Schnittpräparaten sind diese Mikroorganismen von histologischen Zellderivaten des Plexuscholesteatoms nicht zu unterscheiden. Demgemäß dürften Streptokokken die Lymphangitis, bzw. Phlebitis oder Arteriitis hervorrufen, durch welche die Cholesterinausscheidung in den zerebralen Plexuscholesteatomen bedingt wird. Der Häufigkeit der zerebralen Plexuscholesteatome bei den Pferden entspricht die Häufigkeit ihrer Streptokokkeninfektionen. Die letzteren treten klinisch hauptsächlich als Drusekrankheit der Pferde in die Erscheinung. Demgemäß dürften die zerebralen Plexuscholesteatome der Pferde als Residuen der Drusekrankheit zu betrachten sein, wie bereits der Veterinärpathologe Kitt[2]) vermutet hat. Wie sich die entsprechenden Verhältnisse bei den menschlichen Plexuscholesteatomen gestalten, vermag ich zurzeit nicht zu bekunden, weil mir die letzteren infolge ihrer Seltenheit nicht zur Verfügung standen. Es findet also nach meinen bisherigen Erfahrungen für die Aetiologie und Pathogenese der zerebralen Plexuscholesteatome folgender Kausalnexus statt:

1) Streptokokkeninfektion,
2) Arteriitis, bzw. Phlebitis oder Lymphangitis,
3) Cholesterinausscheidung und Thrombose,
4) Organisation des Thrombus, so daß am Schluß des Prozesses das Granuloma cholesterinicum resultiert.

---

[1]) l. c. S. 135.

[2]) Lehrb. d. pathol. Anat. d. Haustiere. Stuttgart 1911.

Bezüglich des Cholesterins und seiner Bedeutung für die Physiologie und Pathologie existiert eine umfangreiche Literatur. In dem Rahmen der vorliegenden Mitteilung kann ich mich auf folgende Bemerkungen beschränken. Das Cholesterin wird im Organismus des Menschen und der Tiere nicht gebildet; es entstammt der Pflanzenwelt und wird mit der vegetabilischen Nahrung von Mensch und Tier aufgenommen. (Vgl. Abderhalden, Lehrb. d. physiol. Chemie. Berlin-Wien 1906.) Unter physiologischen Verhältnissen verbindet sich das Cholesterin des menschlichen und tierischen Organismus mit Fettsäuren, so daß Cholesterinfettsäure-Ester entstehen. Unter pathologischen Verhältnissen zerfallen die Cholesterinfettsäure-Ester in ihre Komponenten, in Cholesterin und Fettsäure. Nur die Erythrozyten führen nach den Untersuchungen von Hürthle[1]) und Röhmann[2]) auch unter physiologischen Verhältnissen freies Cholesterin, weil sie ein Ferment besitzen, das Cholesterinfettsäure-Ester spaltet. Die Cholesterinfettsäure-Ester geben alle mikrochemischen Reaktionen der Glyzerinfettsäure-Ester, d. h. der echten Fette; die Cholesterinfettsäure-Ester werden deshalb den Lipoiden zugerechnet. Für die Lipoide des Botriocephalus latus haben Faust[3]) und Tallqvist[3]) nachgewiesen, daß sie Cholesterinester der Oelsäure, der Palmitinsäure und der Stearinsäure sind, und daß an dem Cholesterinester der Oelsäure die Giftwirkung des genannten Wurmes haftet. Es ist nicht bekannt, welche chemische Zusammensetzung die Lipoide derjenigen Helminthen besitzen, die Karzinomerreger, bzw. Sarkomerreger sind, wie der Bilharzia-Wurm und die Spiroptera neoplastica Fibigers. Was die anderen Parasiten betrifft, die befähigt sind, neben chronischen Entzündungen Karzinome, bzw. Sarkome hervorzurufen, — wie z. B. die Tuberkelbazillen und Syphilisspirochäten — (vgl. die Untersuchungen von Esmarch[4]), Ribbert[5]) und Lubarsch[6]), so ist bezüglich des Chemismus der Syphilisspirochäten nichts bekannt; von den Tuberkelbazillen wissen wir seit den Untersuchungen von De Schweinitz[7]) und Dorset[7]), daß sie freie Fettsäuren und Fettsäure-Ester, indessen kein Cholesterin enthalten.

---

1) Zeitsch. f. phys. Chem. Bd. 21. 1895.
2) Berlin. klin. Wochenschr. 1912. No. 42.
3) Arch. f. experim. Pathol. Bd. 57. 1907.
4) Arch. f. klin. Chir. Bd. 22. 1878.
5) München. med. Wochenschr. No. 17. 1894. u. Virch. Arch. Bd. 135. 1894.
6) Virch. Arch. Bd. 111. 1888.
7) Journ. Amer. chem. Soc. 1895 u. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 19. 1896.

Nachdruck verboten.

Der Vorgang der Sporenbildung beim Milzbrandbazillus.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität zu Königsberg i. Pr.
(Direktor: Prof. Dr. H. Selter).]

Von Dr. **Fritz Wauschkuhn,** Assistent.

Mit 9 Figuren im Text.

Ueber die Entstehung der Sporen ist man bisher noch zu keinem einheitlichen Resultate gekommen. Es stehen sich zwei Ansichten scharf gegenüber. Auf der einen Seite (De Bary, Zopf, L. Klein, Bunge, Migula und Burchhard) wird behauptet, die Spore ginge aus einem oder mehreren präformierten Protoplasmakörnchen, die sich später vereinen, hervor, auf der anderen (Brefeld, A. Koch, Peters, Frenzel, A. Fischer, A. Meyer, Mühlschlegel, Ascoli, Nakanishi, H. Selter) hat man beobachtet, daß die Spore durch Zusammenziehung des Zellprotoplasmas entsteht, wobei sich der Lichtbrechungsindex ändert. Es fehlt auch nicht an Autoren (Preisz, Růžička), die zwischen diesen beiden Ansichten zu vermitteln und aus beiden Beobachtungen eine einheitliche Auffassung von der Sporenbildung herbeizuführen versucht haben.

Mit Rücksicht auf die sehr eingehenden Literaturangaben von Preisz, H. Selter und Růžička, sehe ich von einer weiteren Literaturbesprechung ab.

Eine Untersuchung von Preisz über Keimung von Bakteriensporen gab mir Veranlassung, der Frage der Sporenbildung nochmals näherzutreten. Preisz verfolgte die Auskeimung der Sporen mit Hilfe der vitalen Färbung durch verdünnte Fuchsinlösungen, die er derart ausführte, daß er mit der Nadelspitze eine Spur des Untersuchungsmaterials auf einen Objektträger mit ein wenig Fuchsinlösung verrieb, dann mit einem Deckglas bedeckte, das er fest mit Filtrierpapier anpreßte. Bei dieser Färbemethode starben die Bazillen nicht gleich ab, sondern blieben noch eine gewisse Zeit lang am Leben, was er an ihren, zum Teil recht lebhaften Bewegungen beobachten konnte.

In ähnlicher Weise versuchte ich, die Sporenbildung zur Darstellung zu bringen. Ich benutzte dazu allerdings nicht die vitale Färbung, sondern die Färbung von angetrocknetem und fixiertem Material mit verdünnten Fuchsinlösungen. Zur Kontrolle wurde die Sporenbildung im hängenden Tropfen verfolgt, in gleicher Weise wie es auch von Ascoli und H. Selter geschehen war.

Reine Sporen, die einer alten, gut sporenbildenden Milzbrandkultur des Instituts entstammten, wurden auf mehrere gewöhnliche Agarplatten überimpft, und diese in einen Brutschrank (37 ° C) gestellt. Nach 2 Std. wurde mit einer Platinöse das erste Material entnommen und auf einen Objektträger gebracht. Die weitere Entnahme von Material erfolgte dann regelmäßig in Abständen von 15 Min. Um Fehler zu vermeiden, wurde jede Agarplatte nur für 8 Materialentnahmen (2 Std.) benutzt. Die einzelnen Ausstriche färbte ich, nachdem sie lufttrocken und über der Flamme fixiert waren, 3 Min. mit einer verdünnten, wässerig-alkoholischen Fuchsinlösung. Als Stammlösung benutzte ich nach Preisz ein Gemisch von 2 ccm konzentr. alkohol. Fuchsinlösung + 10 ccm konz. Alkohol + 10 ccm dest. Wasser, die ich dann zum jedesmaligen Gebrauche frisch im Verhältnisse 1:10 mit destilliertem Wasser vermischte. Diese Farblösung eignete sich sehr gut zur Färbung der Milzbrandbazillen und lieferte stets klare und einwandfreie Bilder.

Im gefärbten Präparate erschienen die einzelnen Stäbchen gleichmäßig leuchtend rot gefärbt und zeigten scharfe Umgrenzungen. Bei den 5—7 Std. alten Kulturen waren im gefärbten Ausstrichpräparate schon die ersten Veränderungen wahrnehmbar. Während das einzelne Stäbchen seine schlanke Gestalt beibehielt, erschien im Zellprotoplasma eine kleine, punktförmige, ungefärbte Stelle, die sich mehr oder weniger scharf von ihrer gefärbten Umgebung abhob; oft schien sie auch von einer schwächer gefärbten Zone umgeben zu sein. Das ungefärbte Pünktchen nahm im Milzbrandstäbchen die verschiedenste Lage ein. Bei einem längeren Milzbrandfaden konnte ich es in den einzelnen Stäbchen in der Mitte, in der Längswand oder an einem Stäbchenende beobachten. In diesem Stadium pflegte in jedem Stäbchen 1 ungefärbtes Pünktchen aufzutreten. Mit der Zeit wurden diese ungefärbten Stellen größer und nahmen oft das verschiedenartigste Aussehen an (punkt-, stäbchen-, halbmond-, hantelförmig usw.). Je größer nun diese farblosen Stellen wurden, um so mehr waren sie in der Mitte des Stäbchens zu finden. Schließlich näherten sie sich in ihrer Größe und in ihrem Aussehen oft schon den typischen Sporen. Nach 11 $^1/_2$ bis 16 Std. waren bei meinen Milzbrandkulturen die farblosen Stellen schon so weit vergrößert, daß sie für typische Sporen angesprochen werden konnten. Die Stäbchen erschienen jetzt an den Enden meist etwas abgerundet. Die längliche Spore lag entweder ganz in der Mitte des Stäbchens, so daß an beiden Polenden noch geringe Zellprotoplasmareste übrig blieben, die sich deutlich rot färbten, oder sie befand sich mit einem Pole ganz an einem Stäbchenende, so daß am anderen Pole ein größerer Protoplasmarest färbbar blieb. Im letzteren Falle war dann in einem Milzbrandfaden die Lagerung der einzelnen sporentragenden Stäbchen meist so, daß immer die Protoplasmareste von je 2 Stäbchen aneinander standen. Die Sporen schienen die Längswand des Stäbchens zu berühren, denn es ließen sich hier keine Protoplasmareste färben. Die Stäbchenenden nahmen mit der Zeit immer mehr an Rundung zu; die färbbaren Protoplasmareste wurden kleiner. Schon nach 19 $^1/_2$ Std. waren die ersten freien Sporen zu beobachten, die an ihren Polen noch ganz geringe Reste von färbbarem Protoplasma trugen, die gleichsam wie Hauben aussahen. In längeren Milzbrandfäden konnte ich zu dieser Zeit oft zwischen 2 noch sporentragenden Stäbchen einen leeren, zusammengeschrumpften Bazillenschlauch sehen, der sich nur ganz schwach rot färbte; in seiner Nähe war meistens die zugehörige freie Spore zu finden.

Bei Beobachtung des hängenden Tropfens im heizbaren Mikroskope[1]) konnte ich folgende Wahrnehmungen machen: Die jungen, schlanken Milzbrandfäden zeigten zunächst in ihrem Innern ein ganz fein gekörntes Protoplasma. Nach ungefähr 1—2 Std. trat entweder die Körnelung schärfer hervor, so daß einzelne Körnchen sich deutlich voneinander abhoben, oder es zeigte sich in der Mitte des Stäbchens ein ellipsenförmiger, matter Fleck, der schon die spätere Form der Spore andeutete. Er nahm ca. $^2/_3$ des Stäbchens ein und schien der Längswand scharf anzuliegen, während an den Stäbchenenden noch unverändertes Protoplasma vorhanden war. Dieser anfangs matte Fleck trat mit der Zeit immer deutlicher hervor und nahm an Lichtbrechungsstärke

---

[1]) Der Spiegel des auf 37° geheizten Mikroskopes wurde stets nur für die Dauer der Beobachtung durch eine Gasglühlichtlampe belichtet. Für die übrige Zeit wurde er durch ein lichtundurchlässiges Papier geschützt.

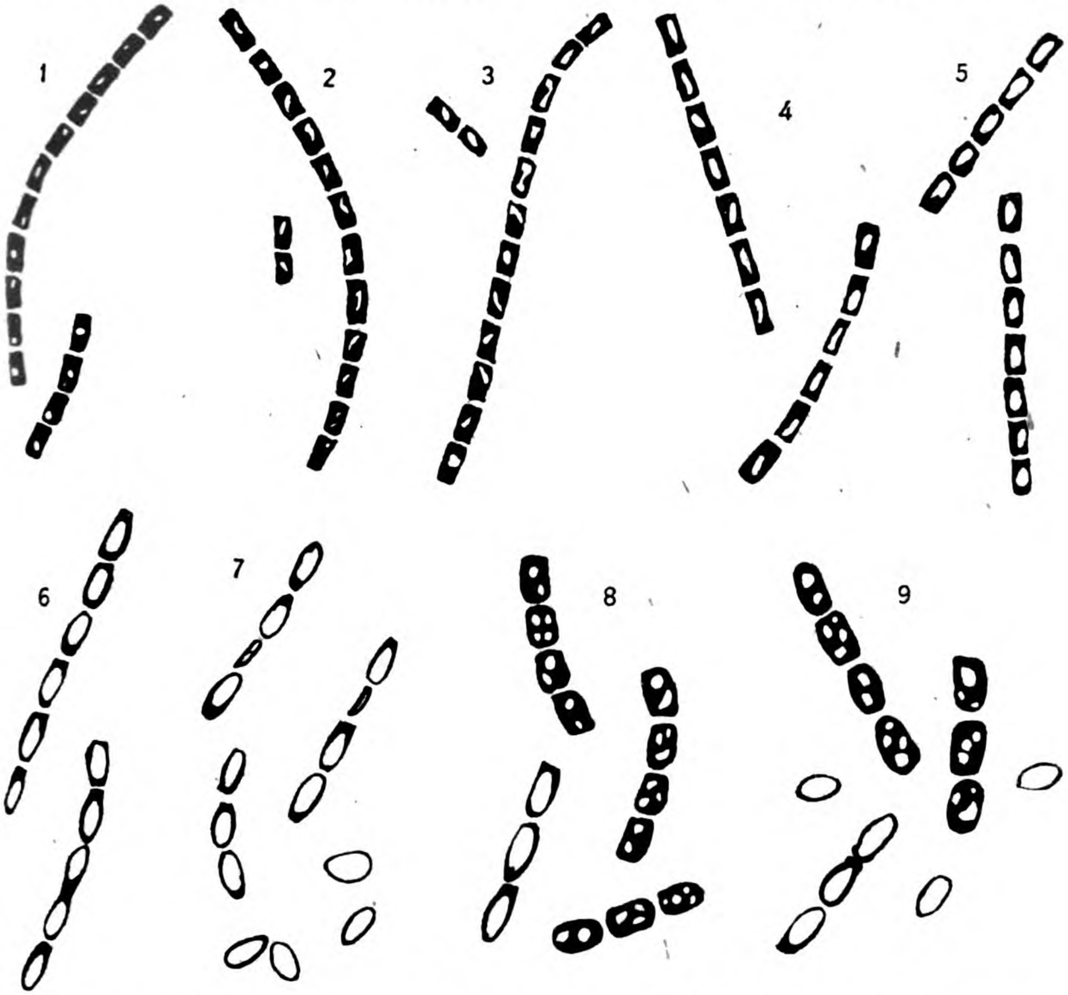


Fig. 1. Milzbrandfäden von einer gewöhnlichen Agarplatte mit punktförmigen, ungefärbten Stellen. 1. Stadium der Sporenbildung. 5 Std. alt.

Fig. 2. Milzbrandfäden mit ungefärbten Stellen von verschiedener Größe, Form und Lage. 6 $^1/_2$ Std. alt.

Fig. 3. Milzbrandfäden mit ungefärbten Stellen von verschiedener Größe, Form und Lage. 8 Std. alt.

Fig. 4. Milzbrandfäden mit ungefärbten Stellen von verschiedener Größe, Form und Lage. 9 Std. alt.

Fig. 5. Milzbrandfäden mit ungefärbten Stellen, die sich in ihrem Aussehen schon sehr den typischen Sporen nähern. 10 Std. alt.

Fig. 6. Milzbrandfäden mit typischen Sporen. 11 $^1/_2$ Std. alt.

Fig. 7. Milzbrandfäden mit typischen Sporen und leeren Bazillenschläuchen; freie Sporen. 24 Std. alt.

Fig. 8. Milzbrandfäden von einer 5-proz. Glyzerinagarplatte (3. Passage). Neben Stäbchen mit typischen Sporen plumpe Bazillen mit ungefärbten Stellen (Körnchen). 18 Std. alt.

Fig. 9. Milzbrandfäden von einer 5-proz. Glzzerinagarplatte (3. Passage). Neben Stäbchen mit typischen Sporen plumpe Bazillen mit ungefärbten Stellen (Körnchen); freie Sporen. 24 Std. alt.

zu. Allmählich büßte er etwas an Größe ein und berührte die Längswand des Stäbchens nicht mehr. Nach einer Beobachtungszeit von etwa 3 Std. waren an der Stelle dieser Flecke typische Sporen sichtbar. Sie boten sich dem Auge als sehr stark lichtbrechende, eiförmige Körperchen dar, die ganz frei im Bazillenschlauche zu liegen schienen, ohne die Zellwand zu berühren. Nach weiteren 4—6 Std. traten die ersten freien Sporen auf. In einigen Milzbrandfäden konnte ich auch leere Bazillenschläuche beobachten, die noch an ihrem alten Platze zwischen 2 sporentragenden Stäbchen lagen, nachdem sie wahrscheinlich kurz vorher ihre Sporen verloren hatten. Die physiol. Kochsalzlösung schien die Sporenbildung sehr zu beschleunigen.

Milzbrandbazillen, die in ihrem Innern grob gekörntes Protoplasma aufwiesen, schienen die Fähigkeit, Sporen zu bilden, vollkommen verloren zu haben. Die einzelnen Körnchen wurden auch größer, nahmen an Lichtbrechungsstärke zu, entwickelten sich aber nie zu Sporen. Einige solcher Fälle konnte ich bis zu 14 Tagen beobachten. Oft sah ich in einem Stäbchen 4—7 Körnchen von verschiedener Größe und Form. Im gefärbten Ausstrichpräparat erschienen diese Körnchen auch als ungefärbte Flecken von mannigfaltigem Aussehen. Der hängende Tropfen bestätigte also die im gefärbten Präparat gemachten Beobachtungen.

Die Sporenbildung scheint demnach in folgender Weise vor sich zu gehen: Im Milzbrandstäbchen erscheint im ungefärbten Präparate als erstes Anzeichen der beginnenden Sporenbildung ein matter Fleck, der sich deutlich von seiner Umgebung abhebt und schon in groben Umrissen die spätere Form der Spore trägt. Es muß also mit einem Teile des Zellprotoplasmas eine Veränderung eingetreten sein, die zum mindesten die Lichtbrechungskraft dieses Teiles verstärkt hat. Durch weitere und intensivere Verdichtung des Protoplasmas gewinnt der ellipsenförmige Fleck immer mehr an Körpergestalt und nimmt die Form der Spore an. Dementsprechend deutet im gefärbten Präparat der ungefärbte Punkt die Stelle an, an der die erste stärkere Protoplasmaveränderung resp. Protoplasmakontraktion stattfindet; hier wird also infolge der intensiven Protoplasmaverdichtung die Farbe nicht mehr angenommen. Bei dem weiteren Fortgang der Protoplasmazusammenballung werden die ungefärbten Stellen immer größer. Im gefärbten Präparate macht es den Eindruck, als ob diese Protoplasmaverdichtung öfter gleichzeitig an 2 Stellen (hantelförmige Figuren s. Fig. 3) der zukünftigen Spore auftrete. Bei näherer Beobachtung findet man dann stets, daß sie durch ein schmales, ungefärbtes Band verbunden sind. Je weiter die Zusammenballung vorgeschritten ist, um so größer wird die ungefärbte Stelle und um so gleichmäßiger wird ihr Aussehen und ihre Lage. Im gefärbten Präparat scheint die fertige Spore der Längswand des Stäbchens dicht anzuliegen; wahrscheinlich ist hier beim Trocknen oder Fixieren eine Schrumpfung des Bazillenschlauches eingetreten, der sich dann fest um die Spore gelegt hat. Bei meinen Untersuchungen habe ich in keinem Milzbrandstäbchen, weder im hängenden Tropfen, noch im gefärbten Ausstrichpräparate, neben der typischen Spore noch kleine Körnchen gefunden. Alle Bazillen, die bei beiden Untersuchungsmethoden in ihrem Inneren mehrere Körnchen resp. ungefärbte Stellen aufweisen, scheinen jede Fähigkeit, Sporen zu bilden, verloren zu haben. Diese Körnchen, die wohl mit den „Sporoidkörpern“ Růžičkas identisch sind, können von verschiedener Form und Größe sein und oft auch eine ganz bedeutende Lichtbrechungskraft zeigen, die fast an die der typischen Spore heranreicht.

Die Ergebnisse meiner Untersuchungen dürften im wesentlichen die Angaben von A. Fischer, Ascoli und H. Selter bestätigen.

Literatur.

1) Ascoli, G., Deutsch. med. Wochenschr. 1901. S. 313.
2) Buchner, H., Centralbl. f. Bakt. Bd. 8. S. 1.
3) Eisenberg, Philipp, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 63. S. 305.
4) — ebenda. Bd. 73. S. 81.
5) Fischer, A., Ueber den Bau der Cyanophyceen und Bakterien. Jena 1897; Ref. n. Preisz.
6) Fischoeder, F., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 51. S. 320.
7) Kruse, W., Allgemeine Mikrobiologie. 1910.
8) Mühlschlegel, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 6. S. 65.
9) Müller, P. Th., Allgemeine Morphologie der Bakterien, Hefen, Faden- und Schimmelpilze. (Handb. d. Hyg. v. Rubner, v. Gruber u. Ficker. Bd. 3. Abt. I.)
10) Nakanishi, K., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 30. S. 97.
11) Preisz, Hugo, Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. 35. S. 280.
12) — Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 82 S. 321.
13) Růžička, Arch. f. Hyg. Bd. 64. 1908. S. 219.
14) Selter, H., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 37. S. 186.
15) Sobernheim, Milzbrand. (Handb. d. pathog. Mikroorganism. v. Kolle u. v. Wassermann. 2. Aufl. Bd. 3. S. 583.)

Nachdruck verboten.

Klinisches und Histologisches über Hunde-Babesiose.

[Aus dem Pathologischen Institut der Deutschen Medizinschule in Shanghai.]

Von Privatdozent Prof. Dr. **Walther Fischer** in Göttingen
und Dr. med. **Hans Scheidemann.**

Im Jahre 1915 waren bei Jagdhunden, die im Lager der in Nanking „internierten“ Mannschaft von S. M. S. „S. 90“ gehalten wurden, einige merkwürdige, unter schwerem Ikterus rasch tödlich verlaufende Krankheitsfälle beobachtet worden. Die Organe eines solchen Hundes wurden dem Pathologischen Institut in Shanghai zugeschickt, um die Aetiologie der Erkrankung wenn möglich aufzuklären. Es fand sich eine schwere Infektion mit Schistosomum japonicum — die hierzulande recht verbreitet ist —, und die hochgradige ikterische Leber war durch und durch von Eiern dieses Parasiten durchsetzt, so daß der Ikterus hierdurch anscheinend ungezwungen erklärt wurde, wenn auch keinerlei zirrhotische Veränderungen, wie man sie sonst in der Regel beobachtet, bestanden.

Im nächsten Jahre traten nun aber wieder gehäuft ähnliche Erkrankungen bei den Jagdhunden auf, wiederum unter den Erscheinungen von Hämoglobinurie und Ikterus meist rasch und tödlich verlaufend. Im ersten derartigen Falle, der nun zur anatomischen Untersuchung kam, wurde nun aber keinerlei Infektion mit Schistosomum japonicum festgestellt. Das Krankheitsbild indes war genau dasselbe, wie in den Fällen des Vorjahres gewesen. So tauchten doch Zweifel an der Richtigkeit der damaligen Diagnose auf und der Verdacht, es möchte sich wohl um eine Babesiose, Piroplasmose, handeln. Als darauf bei den andern erkrankten Hunden Blutabstriche gemacht wurden, bestätigte sich dieser Verdacht vollkommen: es handelte sich um Infektion mit **Babesia (Piroplasma) canis.**

Wir wollen hier etwas eingehender über einige dieser Fälle berichten, weil wir der Ansicht sind, daß die Kenntnis dieser Krankheit noch recht mangelhaft ist, aber auch, weil wir bei der Untersuchung histologisch mancherlei Interessantes und auch Neues gefunden haben. Die klinischen Aufzeichnungen und die Obduktionsnotizen stammen von Dr. **Scheidemann**, der die Fälle in Nanking beobachtet und die Obduktionen vorgenommen hat. Die Organe wurden entweder in toto, oder aber nur kleine Stückchen weniger Organe, zur histologischen Untersuchung nach Shanghai geschickt, die Dr. **Fischer** vornahm; ebenso auch die Untersuchung der Blutabstriche.

Insgesamt sind im Sommer 1916 in Nanking etwa 40 Jagdhunde gestorben. Die Fälle, über die hier berichtet wird, sind: 3 akut tödlich verlaufende, 4 chronisch verlaufende und in Heilung übergehende. Histologisch untersucht wurden Organe von den 3 eben genannten sowie von 2 weiteren Fällen, von denen keine näheren klinischen Notizen vorhanden sind, deren Erkrankung aber ganz analog den näher zu schildernden verlief; Blutabstriche wurden untersucht von 6 Fällen.

I. Akut, letal verlaufende Fälle.

1) Kora, Mischling-Hündin. Alter 1¼ Jahre. Stammt von gesunden Eltern. Keine früheren Erkrankungen. Die Hündin war belegt und stand am Erkrankungstage im 54. Tage der Gravidität. Krankheitsverlauf: Die sonst so lebhafte Hündin macht plötzlich einen niedergeschlagenen Eindruck. Die Freßlust ließ nach. Am 4. Tag der Erkrankung trat Frühgeburt ein, die Föten waren tot. Post partum machte die Hündin einen ganz benommenen Eindruck, bekam hohes Fieber und eigentümlichen Glanz der Augen. Parallel mit der ständigen Abnahme der Freßlust ging eine ganz rapide Abmagerung und enorm rascher Kräfteverfall. Die Atmung war sehr beschleunigt. Die Schleimhäute wurden innerhalb weniger Tage völlig anämisch. Die Hündin schleppte sich nach der Frühgeburt noch 10 Tage hin, war kaum dazu zu bewegen, aus ihrer Hütte herauszukommen, zeigte schließlich völlige Benommenheit bei hohem Fieber, das zwischen 40 und 41.5 schwankte. Der Urin wurde gleich zu Beginn der Erkrankung braungelb, nach der Frühgeburt dunkelbraun, gegen das Ende der Krankheit rotbraun. 2 Tage ante exitum trat über Nacht hochgradige ikterische Verfärbung der Schleimhäute ein. Es bestand hochgradige Anämie, derart, daß ein frischer Blutstropfen die Farbe von etwas schmutzigem Wasser hatte. Der Stuhl war anfangs normal, später reichlich stinkend; post partum setzte er fast ganz aus. Krankheitsdauer: 14 Tage.

Bei der Obduktion ergab sich: Alle Organe hochgradig ikterisch gefärbt. Die Lungen etwas ödematös, ohne Verdichtungen. Herz ganz wenig dilatiert. Die Milz enorm vergrößert, überlagert das ganze Abdomen; sie ist von fester Konsistenz, die Maße betragen 28:12:6 (schätzungsweise das 4-fache des Normalen). Die Nieren blaß, gelblich, mit eigenartigen bräunlichen Streifen und Flecken. Leber grün-ikterisch, nicht vergrößert, blutarm. Darm ohne Besonderheiten.

Blutbefund: hochgradige Vermehrung der kernhaltigen Zellen; das Bild gleicht durchaus dem einer Leukämie. Die roten Blutzellen sehr ungleich groß, viele mit ausgesprochener Basophilie, sehr viel kernhaltige rote Blutzellen. Viele rote Blutkörperchen gequollen, manche ganz wie von kleinen Vakuolen durchsetzt aussehend. Von den weißen Blutzellen sind die neutrophilen nur wenig vermehrt, dagegen finden sich große mononukleäre in großen Mengen, ferner sehr zahlreiche neutrophile Myelozyten, und auch Myeloblasten. Eosinophile Zellen fehlen fast ganz. Lymphozyten zeigen oft das Bild von Reizformen.

Etwa ⅓ aller Erythrozyten ist mit **Babesien** infiziert; in manchen roten Blutzellen finden sich ihrer 4 und noch mehr. Die meisten Parasiten sind ganz auffallend klein; es überwiegen Ringformen, aber auch birnförmige Parasiten sind nicht selten.

2) Feldmann, deutscher Vorstehhund, 1 Jahr alt. Beide Eltern und eine Schwester sind unter denselben Erscheinungen erkrankt und innerhalb von 8—10 Tagen unter Anämie und hochgradigem Ikterus eingegangen. Dauer der Krankheit: 10 Tage.

Krankheitsverlauf: nach einer Tagesjagdtour zeigte der Hund wenig Lust zum Fressen. Am nächsten Tag war der Urin dunkelgelb. Der Hund nahm jetzt nur noch gezwungen Fressen zu sich. Innerhalb von 3 Tagen magerte das sehr kräftige Tier bis zum Gerippe ab. Das Sensorium war ganz benommen. Am 5. Tag trat anscheinend Besserung ein, doch nur für 1 Tag. Die Atmung war während der Krankheit sehr beschleunigt. Die Temperatur schwankte zwischen 40 und 41 Grad. Am 3. Tage wurden die Schleimhäute ganz blaß, und 2 Tage ante exitum nahmen sie stark ikterische Farbe an. Stuhl während der Krankheit nach Konsistenz und Farbe normal. Urin die letzten Tage vor dem Tode blutig gefärbt.

Blutbefund: Leukozytäres Blutbild kaum verändert. Geringe Hyperleukozytose. Einzelne lymphozytäre Reizformen, relativ viel große, mononukleäre Zellen. Ziemlich viel kernhaltige rote Blutzellen. Anisozytose. Vielfach basophile Färbung der roten Blutzellen. Ein großer Teil der roten Blutzellen erscheint etwas vakuolär; diese Zellen erweisen sich infiziert mit sehr kleinen, rundlichen, ovalen oder birnförmigen Parasiten, oft 3 und mehr in einer Zelle. Sektionsbefund makroskopisch: Hochgradige ikterische Verfärbung der Organe. Subendokardiale und subepikardiale Ekchymosen. Milz auf das 4- bis 5-fache vergrößert, Follikel dabei ziemlich deutlich. Bräunliche Streifen in der sonst blassen Niere. In der rechten Herzkammer einige Exemplare von Dirofilaria immitis.

3) Nigger. Englischer, kurzhaariger Hund, $1^{1}/_{2}$ Jahre alt. Dauer der Krankheit 10 Tage. Der Hund zeigte plötzlich Unlust zu fressen, so daß er von diesem Tage an die ganze Zeit gewaltsam gefüttert werden mußte. Schon am 2. Tage Blaßwerden der Schleimhäute, rasch zunehmend; innerhalb weniger Tage rapider Kräfteverfall und sehr stark benommenes Sensorium. Atmung andauernd sehr beschleunigt. Urin erst dunkelgelb, dann rotbraun. Stuhl die ganze Zeit über breiig, rotgelb, stinkend. 2 Tage ante exitum trat hochgradige ikterische Färbung der Schleimhäute auf. Dauernd hohes Fieber.

Blutbefund: Hochgradige Vermehrung der kernhaltigen Zellen. Unter diesen viel lymphozytäre Reizformen, viel Myelozyten, besonders auch basophil gekörnte; ganz wenige eosinophile Zellen. Anisozytose. Deutliche Basophilie der roten Blutzellen. Relativ wenig kernhaltige rote Zellen. Viele rote Blutkörperchen erscheinen vakuolär und mit Piroplasmen infiziert.

Sektionsbefund: Starke (kanariengelbe), allgemein ikterische Verfärbung, besonders der Schleimhäute und serösen Häute. Geringes Oedem des Unterhautzellgewebes. Die Milz überlagert das Abdomen, mißt 31 : 13,5 cm. Nahe dem einen Pole der Milz ein etwa taubeneigroßer, weißlich gelber Infarkt, mit scharfer Grenze ohne ausgesprochene hämorrhagische Randzone. Leber fast dunkelgrün, ikterisch, mit einzelnen kleinen, gelblichen Herden von weicher Konsistenz. Subepikardiale Ekchymosen; 2 Exemplare von Dirofilaria immitis im rechten Ventrikel.

II. Chronische Fälle.

4) Gebby, deutscher Vorstehhund, 10 Monate alt. Dauer der Erkrankung 3 Monate. Der Hund machte einen etwas schlappen Eindruck, so daß er nicht mehr zur Jagd mitgenommen wurde. Die Augen fielen ein und bekamen einen eigentümlichen Glanz. Allmählich stellte sich Benommenheit ein. Augenbindehaut, Zahnfleisch und Zunge blaß. Gleichzeitig wird dunkelbraune Färbung des Urins beobachtet. In der ersten Krankheitswoche sehr rasche Abmagerung und schneller Kräfteverfall. Freßlust litt durch die Krankheit nicht. In vollkommen abgemagertem, schwerkrankem Zustand schleppt sich das ganz anämische Tier mehrere Wochen so hin. Augen stets eigenartig glänzend, tiefliegend. Die ganze Zeit indes frißt es freiwillig. Nach 6 Wochen begann ganz langsame Erholung. Die schmutzig weiße Farbe der Schleimhäute wird allmählich wieder etwas rötlich. Bei kräftiger Nahrung (rohes Fleisch, Eier, Milch) erholt sich das Tier sichtlich, doch tritt in der 7. Woche noch ein kurzer Rückfall ein. Nach 3 Monaten kann das Tier wieder als hergestellt gelten. Der Urin ist nicht mehr braunrot, sondern gelb. Trotz sehr guten Appetites zeigt sich jedoch noch nicht der geringste Fettansatz. Die Hündin ist stets ganz mager geblieben.

Blutbild am Ende der Krankheit: leichte Anisozytose. Leukozytäres Blutbild unverändert. Wenige rote Blutkörperchen sind mit Piroplasmen infiziert.

5) Tissy, langhaariger deutscher Pudelpointer, $1^{1}/_{2}$ Jahre alt. Dauer der Krankheit 6 Wochen. Die Krankheit begann mit einem Schwächeanfall nach der Jagd. Dann Teilnahmlosigkeit, wenig Freßlust. Innerhalb weniger Tage hochgradigste Abmagerung, gleichzeitig zunehmende Anämie. Ständig hohes Fieber. Die Freßlust verging nie völlig. Stuhl ohne Besonderheiten. Urin dunkel, rotbraun. Auf der Höhe der Erkrankung (3. Woche) war die Hündin ganz zusammengefallen, Schleimhäute völlig weiß, Augen tiefliegend, Sensorium benommen, die Hündin läßt unter sich, beschmutzt sich. Nach 4 Wochen langsame Erholung, allmählich färben die Schleimhäute sich ein wenig, die Kräfte nehmen zu. Der anfangs dunkelgelbe, schließlich fast schwärzlichbraune Urin wird wieder heller, die Kurzatmigkeit läßt nach. Nach 6 Wochen

war die Hündin wiederhergestellt, doch traten in den folgenden Wochen noch bisweilen Anfälle von Schwäche auf. Appetit war immer gut; aber auch bei diesem Hund ist nach der Erkrankung kein Fettansatz wieder aufgetreten. Die Hündin ist sonst jetzt wieder vollkommen gesund und munter, und leistet auf der Jagd dasselbe wie früher.

Blutbefund nach der Erkrankung: Leukozytäres Blutbild normal. Leichte Anisozytose und sehr ausgesprochene Basophilie der roten Blutzellen. Ganz wenige Piroplasmen in einigen Blutzellen.

6) Freya, englischer kurzhaariger Hund. Alter ¾ Jahre. Dauer der Krankheit: 3 Monate. Der Hund wurde leicht müde, fraß schlecht, mußte schließlich gewaltsam gefüttert werden. Starke Abmagerung innerhalb weniger Tage, Schleimhäute werden blaßgelb, Urin dunkelbraun. 8 Tage lang hochgradige Anämie. Nach 14 Tagen langsame Besserung, Schleimhäute bekommen rötlichen Schimmer. Nach 2 Monaten Rückfall, Schleimhäute werden wieder blaß und gelb, Urin dunkelbraun. Nach 8 Tagen schweren Krankseins Heißhunger, von da ab ständige Besserung. Anämie schwindet langsam, Urin wird allmählich wieder gelb. Nach 3 Monaten wieder gesund. 1 Monat später im Blut keine Zeichen von Anämie mehr, normales Blutbild; Piroplasmen werden nicht mehr gefunden.

7) Tell. Kurzhaariger Jagdhund, 2½ Jahre. Krankheitsdauer 2 Monate. Magert innerhalb von 5 Tagen ganz ab, Schleimhäute werden blaß, dann gelb und bleiben so 3 Wochen. Urin dunkelbraun. Freßlust besteht während der ganzen Krankeit. Ganz langsame Erholung und Wiederherstellung; doch fehlt Fettansatz völlig. Im Blut 1 Monat später ganz wenige Piroplasmen, etwas Anisozytose.

Mikroskopische Befunde.

1) Hund Kora.

Lunge: Mäßige Hyperämie, nirgends Pneumonie. In den weiten Kapillaren sehr viel weiße Blutzellen, besonders mononukleäre. Stellenweise so viele weiße Blutzellen, daß sich ein Bild wie bei Leukämie ergibt. In vielen Kapillaren kleine, hyaline Thromben, oft anschließend an 1 oder 2 typische Knochenmarksriesenzellen. Solche Riesenzellen sehr zahlreich, und zwar teils normale, teils Zellen mit pyknotischem Kerne, auch freie Kerne. Um die Riesenzellen herum oft größere Mengen von Myelozyten.

Milz: Follikel fast nirgends deutlich, wo gut erhalten, mit großem Keimzentrum und sehr blassen Zellen. Die Sinus alle enorm erweitert, prall mit Blut gefüllt. Das ganze Bild der Milz ähnelt viel mehr dem von Knochenmark, denn dem von Milzgewebe; unter den Zellen des Blutes sehr zahlreich Myelozyten, und in großer Anzahl Knochenmarksriesenzellen, meist mit nicht-pyknotischen Kernen und gut erhaltenem Protoplasma. Einige minimale nekrotische Herde.

Leber: Gefäße alle sehr weit, prall mit Blut gefüllt, die meisten Blutzellen sind kernhaltige Zellen, nämlich neutrophile Leukozyten und Myelozyten, ferner auch große mononukleäre Zellen. Vielfach findet man in den Kapillaren auch typische Knochenmarksriesenzellen, bisweilen auch deren etwas pyknotische Kerne allein, ohne Protoplasma. In der ganzen Leber zahlreiche, doch kleine, zentrale Läppchennekrosen. Es besteht diffuse, großtropfige Verfettung, die in den zentralen Abschnitten der Läppchen am ausgesprochensten ist. Hochgradige Gallenstauung und Bildung von typischen Gallenzylindern; am geringsten noch da, wo Nekrosen vorhanden. Keinerlei Infiltrate im periportalen Gewebe. Mesenteriallymphknoten: typischer Sinuskatarrh. Reichlich Blutpigment. Keine Knochenmarksriesenzellen.

Niere: Glomeruli intakt, mit Hyperämie der Schlingen. In den Hauptstücken sehr viel körniges, schmutzig gelbes Pigment, das positive Eisenreaktion gibt. Epithel überall tadellos erhalten. Das Pigment findet sich zum Teil auch in Form von Zylindern im Lumen der Kanälchen. Auch im interstitiellen Gewebe findet sich solches braungelbe Pigment in Spuren. Die geraden Kanälchen, sowie die Schleifen ohne Befund. In manchen Kanälchen auch grüne Gallenfarbstoffzylinder. Im Mark einige wenige kleine Blutbildungsherde, mit Myelozyten und kernhaltigen roten Zellen. Nirgends Knochenmarksriesenzellen gefunden.

2) Feldmann.

Lunge: Kleine, bronchopneumonische Herde. Alle Kapillaren weit. Das Blut sehr reich an weißen Blutzellen. In einigen kleinen Gefäßen auch kleine, aus Plättchen und Leukozyten bestehende Thromben. Auch einige ältere, in Organisation begriffene Thromben. Knochenmarksriesenzellen in den Kapillaren nur sehr spärlich.

Leber: Kapillaren alle weit, prall mit Blut gefüllt. Das Blut besteht aus überwiegend kernhaltigen Zellen; darunter viele Myelozyten, und kernhaltige, rote Blutzellen, ferner ziemlich zahlreich Knochenmarksriesenzellen in den Kapillaren. Im Zentrum der Leberläppchen da und dort kleine nekrotische Herde. Mäßiger Fettgehalt der Zellen, besonders in den zentralen Abschnitten. Starke Gallenstauung, besonders in den zentralen Läppchenteilen. Geringe Rundzellinfiltrate im periportalen Gewebe. Mäßige Berlinerblaureaktion in der Leber.

Niere: Glomerulusschlingen weit, stark gefüllt. In vielen der erweiterten Kapselräume etwas Albumen. Epithel der Hauptstücke gut erhalten, zum Teil mit hyalinen Tropfen. Sehr viel Albumen in den Kanälchen. Mäßige Mengen von eisenhaltigem Pigment in den gewundenen Kanälchen. Im Lumen der Kanälchen auch ganze Zylinder aus Hämoglobin. Ferner auch Zylinder aus Gallenfarbstoff. Mäßige Verfettung des Epithels der Hauptstücke (feintropfig, diffus) wie auch einiger dicker Schleifenschenkel. Im interstitiellen Gewebe keinerlei Infiltrate.

Milz: Follikel zum Teil ganz gut erhalten, mit großen, blassen Keimzentren, deren Zellen zum Teil verfettet sind. Sinus alle auffallend weit, prall gefüllt mit Blutzellen, und auch fetthaltigen Zellen. Das Blut in den Sinus ist sehr reich an kernhaltigen Zellen, sieht fast wie leukämisches Blut aus. Dabei finden sich auch viele Knochenmarksriesenzellen, manche auch mit pyknotischem Kerne. Es besteht mäßige Hämosiderose.

Mesenteriallymphknoten: vergrößert, überall hochgradige Blutresorption. Sehr viel Pigment in den Sinus, hingegen sehr wenige Leukozyten. Follikel intakt.

Darm: keinerlei Zeichen von Entzündung, Epithel überall intakt. Hyperämie der Submukosa, daselbst auch kleine Blutungen.

3) Nigger.

Lunge: Keinerlei Entzündung. Weite Kapillaren, dicht mit Blut gefüllt. Im Blut vorwiegend kernhaltige Zellen. Mäßig zahlreich auch Knochenmarksriesenzellen, meist mit pyknotischem Kern. In mehreren kleinen Arterien kleine Thromben aus Plättchen, Leukozyten und Fibrin. Einige Gefäße mit Mikrofilarien.

Niere: Glomeruli blutreich, in den zum Teil erweiterten Kapselräumen geronnene Massen. Hauptstücke mit gut erhaltenem Epithel; überall hier feines, körniges, schmutzig gelbbraunes Pigment, das positive Eisenreaktion gibt. Die Körnchen meist klein, die größten bis 2 μ groß. Keine Nekrosen der Epithelien. In manchen Kanälchen ist das Pigment zu ganzen Zylindern zusammengesintert. In anderen Kanälchen auch Gallenfarbstoffpigment im Lumen. Ferner auch einige hyaline

Zylinder. In Spuren findet sich auch Fett im Epithel der Hauptstücke. Da und dort finden sich auch geschrumpfte, hyaline Glomeruli. Im Mark strichweise kleine Rundzellinfiltrate. In den Gefäßen überall sehr zahlreiche weiße Blutzellen, vereinzelt auch Knochenmarksriesenzellen.

Leber: Hochgradige Gallenstauung, Bildung von Gallenfarbstoffzylindern, besonders in den zentralen Teilen der Acini. Ebenda auch bisweilen kleine Nekrosen. In den Nekroseherden finden sich Kerntrümmer, Leukozyten, rote Blutzellen, wenige verfettete Zellen. Die Nekrosen nicht immer ganz scharf abgegrenzt. Die Leberzellen, abgesehen von solchen im Bereich der Nekrosen, nicht verfettet. Die Kapillaren überall weit, gefüllt, das Blut in ihnen wie leukämisches Blut, so reich ist es an kernhaltigen Zellen. Auch finden sich perivaskulär, in allen Abschnitten der Leber, meist strichweise, Infiltrate aus denselben Zellen, nämlich neutrophilen Leukozyten, Myelozyten, darunter auch viel basophilen, ferner großen mononukleären Zellen, doch fehlen eosinophile Zellen. Ungeheuer zahlreich sind Knochenmarksriesenzellen, darunter manche ohne Protoplasma, zum Teil mit sehr pyknotischen Kernen. Bei starker Vergrößerung (Zeiß: DD, Ok. II) oft 3 in einem Gesichtsfeld. Stützgewebe der Leber auch in den nekrotischen Herden noch unversehrt.

Milz: Sinus stark erweitert, alle prall gefüllt mit mehr kernhaltigen als roten Blutzellen. Lymphatisches Gewebe spärlich, Follikel ganz verwaschen. In den Sinus viele große blasse, teilweise auch verfettete Zellen, ferner Zellen mit Mitosen; viel kernhaltige rote Blutzellen, dann neutrophile Leukozyten, Myelozyten, und viel Knochenmarksriesenzellen. In dem infarzierten Bezirk der Milz ist die Nekrose an den einzelnen Stellen sehr verschieden weit gediehen, an manchen eben angedeutet, an manchen völlig, und dann auch der Inhalt der weiten Sinus fast nur aus Kerntrümmern bestehend. Lymphatisches Gewebe findet sich im Infarkt nirgends mehr. An manchen Stellen findet man schon beginnende Organisation. In den Sinus in der Regel recht viel feines Fibrin, und überall wieder reichlich Knochenmarksriesenzellen in den Sinus. Der Rand der nekrotischen Zone gegen die Umgebung ist scharf, eine eigentliche Demarkation des Infarkts, etwa durch eine leukozytäre Zone, findet sich nicht.

Mesenteriallymphknoten: Ausgesprochener Sinuskatarrh. Ueberall sehr viel myeloisches Gewebe.

4) Organe eines Jagdhundes (deutscher Vorstehhund).

Der Befund ist ganz der gleiche, wie im eben geschilderten Fall, nur fehlt der Milzinfarkt. Das Blut hat fast rein leukämische Beschaffenheit, die Milzpulpa zeigt weitgehende myeloische Umwandlung. In den weiten Leberkapillaren auch kleine, hyaline Thromben, auch reichlich Megakaryozyten, zum Teil mit pyknotischem Kern. Auch strichweise perivaskuläre Infiltrate, in deren Umgebung die Leberzellen meist großtropfig verfettet sind.

5) Organe eines stichelhaarigen großen Jagdhundes.

Leber: mäßige Gallenstauung. Kapillaren weit, das Blut in ihnen sehr reich an kernhaltigen Zellen, unter denen sich einzelne kernhaltige rote, und auch Myelocyten befinden. Ferner ziemlich zahlreiche Knochenmarksriesenzellen. Auch um die Gefäße herum strichweise kleine Infiltrate. Kleine zentrale Läppchennekrosen.

In der Milz ein scharf begrenzter Infarkt. In diesem sehr weite Sinus, prall mit Blut und auch sehr viel Fibrin angefüllt. Auch überall

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

ziemlich viel Knochenmarksriesenzellen, meist nur deren nackte, pyknotische Kerne. Einzelne dieser Kerne weisen etwas Verkalkung auf.

Das klinische Bild der Hundebabesiose ist bei Neumann-Mayer treffend kurz geschildert, nämlich: Die Krankheit verläuft als fieberhafte schwere Anämie mit Gelbsucht und Bluthamen und kann in wenigen Tagen unter rapider Abmagerung tödlich enden. Die chronische Form läßt die Hämoglobinurie oft vollständig vermissen, dagegen bildet sich auch hier wieder unter zunehmender Abmagerung vor allem eine schwere Anämie aus. Das trifft auch für unsere Fälle vollkommen zu, doch glauben wir hier die Befunde bei unseren Fällen noch einmal zusammenfassend schildern zu sollen.

Nach kurzem Vorstadium, das sich in Unlust und Unpäßlichkeit äußert (1—2 Tage), tritt die Erkrankung gleich in ihrer ganzen Schwere auf. Es findet ein rapider Kräfteverfall statt, ein kräftiger Hund kann in 2—3 Tagen ganz zum Skelett abmagern. Gleichzeitig treten die Zeichen einer schweren Anämie auf. Die Augen fallen tief ein, bekommen einen eigentümlichen Glanz. Während der Krankheit besteht hohes Fieber, das auf der Höhe zwischen 40 und 41 Grad schwankt. Bald nach Beginn tritt Hämoglobinurie auf. Die Atmung ist sehr beschleunigt. Der Kräfteverfall ist derart, daß die Tiere nach wenigen Tagen nicht mehr sich aufzurichten vermögen. Gleich zu Beginn zeigt sich starke Benommenheit, das Sensorium scheint sehr stark beeinflußt zu sein. Vor dem Tode (in unseren Fällen 1—2 Tage vorher) tritt plötzlich starke ikterische Verfärbung der Schleimhäute und der Haut auf.

Nach den Angaben bei Schilling sollen die akuten Fälle in 4—6—10 Tagen tödlich enden. In den hier mitgeteilten, wie auch den anderen beobachteten Fällen in Nanking, war indes die Dauer länger, 10—14 Tage. Daß zuletzt das Fieber ganz abfällt, und die Temperatur zur Norm zurückkehrt, haben wir nicht beobachtet. Typisch war in unseren Fällen auch der plötzlich auftretende Ikterus, kurz vor dem Tode. Es ist wohl möglich, daß die hier angeführten Differenzen im klinischen Bild — die ja indes nicht sehr groß sind — gegenüber den Angaben bei Schilling etc. sich dadurch erklären, daß dieser Autor experimentelle Infektionen geschildert hat, hier aber die Fälle einer spontanen Epidemie berücksichtigt sind.

Die chronischen Fälle, über die wir hier berichtet haben, unterscheiden sich von den akuten, tödlich verlaufenden Fällen zu Beginn der Krankheit in keiner Weise, nur sind nicht alle die vorher genannten Symptome da, oder nicht so schwer. Das Vorstadium scheint etwas länger zu sein. Die Abmagerung erfolgt ebenso rasch und stark, die Freßlust hört aber nie ganz auf, auch ist das Sensorium nicht so benommen. Die Anämie erreicht ebenfalls erheblichen Grad. Die Höhe der Erkrankung fiel bei unseren Fällen in die 3.—5. Woche, um diese Zeit ist aber der Kräfteverfall auch schon derart, daß das kranke Tier kaum aufstehen kann. Die Erholung erfolgt nur ganz langsam, die Hämoglobinurie bessert sich, die Anämie wird geringer, und nach 2 bis 3 Monaten kann völlige Wiederherstellung eingetreten sein. In unseren Fällen, die hier mitgeteilt sind, betrug die Dauer bis zur Genesung, einmal nur 6 Wochen, sonst 2 oder 3 Monate. Trotz guten Appetites fehlte dann aber der Fettansatz immer noch völlig. Ikterus haben wir in den chronischen, in Genesung übergehenden Fällen 2mal beobachtet.

Die Anämie ist in allen Fällen, akuten wie chronischen, sehr hochgradig. Nach Schilling kann die Zahl der roten Blutzellen bis auf 2 Millionen, ja auf 1 200 000 vermindert sein. Leider standen uns in Nanking nicht die nötigen Apparate zur Blutzählung und Hämoglobinbestimmung zur Verfügung. Die Vermehrung der weißen Blutzellen ist auch in unseren Fällen sehr deutlich, und die Werte bis zu 54 000 weiße Zellen pro Kubikmillimeter, wie Schilling angibt, sind in unseren Fällen zum Teil wohl noch übertroffen worden. Entsprechend der sehr schweren Anämie finden sich im Blut sehr zahlreiche kernhaltige rote Zellen, auch Megaloblasten etc. Die weißen Blutzellen sind, wie gesagt, sehr vermehrt. Indes nicht bloß vorzugsweise die polynukleären neutrophilen. In unseren Fällen waren unter den weißen Zellen, oft in enormer Menge, Myelozyten, die ja normalerweise nur im Knochenmark vorkommen; dann noch sehr große Lymphozyten, die sogenannten Reizformen. Die Ausschwemmung von Knochenmarkszellen kann derart sein, daß das resultierende Blutbild durchaus für ein leukämisches gehalten werden kann, wie ja auch z. B. die Fälle von angeborener allgemeiner Wassersucht, wo hochgradigste Anämie besteht, früher als Fälle von fötaler Leukämie beschrieben worden sind. Das histologische Bild der Leber, z. B. in diesen Fällen von Babesiose, erinnert ungemein an die Fälle eben genannter angeborener Wassersucht, die Schridde und Fischer genauer studiert haben.

Die anatomischen Veränderungen bei der Hundebabesiose sind in den uns zugänglichen Arbeiten immer etwas sehr summarisch behandelt, und verdienen ganz entschieden, sehr eingehend studiert zu werden. Wir können nach unserem Material nur einen sehr unvollkommenen Beitrag zur Kenntnis dieser Veränderungen liefern, indes doch einiges Neue mitteilen.

In der Lunge haben wir in keinem Falle stärkeres Oedem, und nur einmal kleine bronchopneumonische Herde gefunden; also sind diese Veränderungen offenbar doch nicht die Regel. Charakteristisch ist die hochgradige Erweiterung aller Kapillaren (worauf Nocard und Kinoshita ebenfalls hinweisen), und dann, wie auch in vielen anderen Organen, der häufige Befund von Knochenmarksriesenzeilen (Megakaryozyten), entweder ganz erhaltenen, oder solchen mit pyknotischem Kerne. Gelegentlich trifft man solche ja wohl bei den meisten Krankheiten, aber in solcher Menge habe ich sie noch nie gefunden. Ferner ist zu erwähnen der häufige Befund kleiner und kleinster (hyaliner) Thromben, die vermutlich eben mit der Ausschwemmung der Knochenmarkszellen in Zusammenhang stehen.

In der Niere findet man das typische Bild der Hämoglobinurie, also Hämoglobin in dem Lumen von Kanälchen, und körniges Hämoglobin im Hauptstück. Daneben aber kann auch noch weitere Schädigung der Nierenepithelien bestehen, die als parenchymatöse Nephritis zu bezeichnen wäre und sich im Auftreten von Hyalin in den Epithelien, Albumen, Zylinderbildung verrät. In den meisten unserer Fälle war indes keine Nephritis vorhanden.

Hochgradige Veränderungen weist die Leber auf, nämlich stets starke Gallenstauung, die keineswegs auf einen bestimmten Abschnitt der Leberläppchen beschränkt zu sein braucht. Ferner sind ckarakteristisch kleine Nekrosen, immer im Zentrum der Acini und stets hochgradigste Erweiterung der Kapillaren. In diesen oft sehr große Mengen von Knochenmarksriesenzellen. Da und dort kann man sogar perivaskuläre Infiltrate mit Blutzellen finden, die als Blutbildungsherde aufzufassen sind. Die sonst so häufigen Rundzelleninfiltrate im peritonealen Gewebe der Leber haben wir nur einmal beobachtet.

In der Milz ist das Chararakteristische die enorme Erweiterung der Sinus, die mit Blutzellen und Pulpazellen, vielleicht auch noch anderen Zellen, die noch näher zu studieren wären, angefüllt sind; charakteristisch ferner ist die Anwesenheit vieler Knochenmarksriesenzellen und die Neigung zur Bildung kleiner Thromben. Damit hängt auch zusammen die Bildung von Infarkten, besser: nekrotischen Keilen, wie man sie auch in anderen hyperplastischen Milzen, z. B. bei Recurrens und Malaria beobachtet. Sie entstehen offenbar durch die Verstopfung zahlreicher kleinster Gefäße durch hyaline Thromben, nicht durch Embolie der Milzarterie, denn diese wurde intakt befunden. Auch bei Leukämie kommen ja solche nekrotische Keile vor, und wir haben hier ja ganz ähnliche Verhältnisse, bei der geradezu „leukämischen“ Beschaffenheit des Blutes.

In den Mesenteriallymphknoten fanden sich immer die Zeichen des Sinuskatarrhs und der Blutresorption. In allen Organen waren, wie gesagt, die Kapillaren erweitert, und das Blut überall so außerordentlich reich an kernhaltigen Zellen; in den roten Blutkörperchen zahlreiche Babesien.

Es wäre wichtig, in späteren zu untersuchenden Fällen das Knochenmark noch eingehender zu untersuchen, das blutreich und wie fötales Mark aussehen soll: denn es müssen sich da Zeichen hochgradigster Produktion junger Blutzellen finden. Die Zerstörung von Blut ist ja so groß, daß das Knochenmark als blutbereitendes Organ gar nicht mehr ganz ausreicht, und heterotop wieder Blutbildung einsetzt, wie wir das in dem Verhalten der Milz, der Leber (und in einem Falle angedeutet im Verhalten des Markbindegewebes der Niere) sehen.

Der Ikterus ist, dem histologischen Verhalten nach zu schließen, kein reiner Stauungsikterus, vielmehr mindestens zum Teil auch ein hämolytischer.

Ueber die Parasiten wollen wir vorläufig nicht mehr sagen, als daß es sich um sichere Babesien, Piroplasmen, handelt. Es wird sicher zunächst das Gegebene sein, sie als Babesia canis zu bezeichnen. Nur ist auffallend. daß in allen Fällen die Parasiten so auffallend klein waren, bisweilen derart, daß ihr Auffinden auch in tadellos und genügend lange gefärbten Präparaten selbst für den Geübten nicht leicht war. Ob es sich nun um die gewöhnliche Babesia canis oder vielleicht eine andere verwandte Spezies handelt, werden erst weitere Untersuchungen lehren.

Als Ueberträger kam anscheinend vorwiegend eine Zeckenart in

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Frage, nämlich **Rhipicephalus Evertsi**, die rote Zecke mit den roten Beinen; außerdem fanden sich an den Hunden noch einige Exemplare von **Rhipicephalus sanguineus**. Letztere soll in Indien nach **Christophers** die Hundebabesiose übertragen. Es ist aber möglich, daß sogar noch andere Ixodinen in Frage kommen können. Die Erkrankungen erfolgten ganz typisch, „epidemisch“, alle jeweils zu Beginn der Jagdsaison, nämlich Ende September; die Hunde infizieren sich bei der Jagd in dem hohen Gras und Busch.

Es mag noch bemerkt werden, daß den hiesigen Tierärzten das Vorkommen von Babesiose ganz unbekannt war; sie stellten die Diagnose auf: Herzwürmer. Diese Herzwürmer, Dirofilarien, sind ja hierzulande bei Jagdhunden (aber auch anderen Hunden) sehr verbreitet, aber es ist völlig ausgeschlossen, daß sie solche Krankheitssymptome hervorrufen könnten. Dagegen muß, wie schon zu Anfang erwähnt, unter Umständen eine Infektion mit **Schistosomum japonicum** differentialdiagnostisch erwogen werden. Man wird schon aus dem einfachen Blutausstrich die Diagnose leicht stellen können; sogar, wer die Babesien nicht findet, wird wohl die schwere Anämie, die Hyperleukozytose, Ausschwemmung von Knochenmarkszellen, die kernhaltigen roten, die Basophilie nicht leicht übersehen, und wir wüßten keine andere Krankheit, die bei genannten klinischen Symptomen und epidemischem Auftreten da differentialdiagnostisch noch in Frage kommen könnte.

Literatur.

Neumann u. Mayer, Atlas und Lehrbuch wichtiger tierischer Parasiten. (**Lehmanns** Atlanten. Bd. 11. 1914.)
Kinoshita, Arch. f. Protistenk. Bd. 8. 1907.
Schilling, Cl., in **Kolle-Wassermanns** Lehrbuch. 2. Aufl. Bd. 7. 1913.
Fischer, W., Deutsch. med. Wochenschr. 1912. No. 9.

Shanghai, Januar 1917.

Nachdruck verboten.

Hexodontostomum markusi n. gen., n. sp., eine neue Strongylide des Pferdes.

Von **J. E. W. Ihle**, Tierärztliche Hochschule, Utrecht.

Mit 4 Textfiguren.

Vom niederländischen Minister für Landwirtschaft wurde eine Kommission ernannt zur Untersuchung der Sklerostomiasen des Pferdes in Holland. Als Mitglieder wurden ernannt die Herren Prof. L. de **Blieck**, Prof. H. **Markus** (†) und der Autor dieses Aufsatzes. Ein umfangreiches Material, aus Larven und erwachsenen Strongyliden bestehend, wurde gesammelt. Während ich als Zoolog der Kommission schon an anderer Stelle (1919a. S. VII) einen sehr kurzen Bericht über die bis jetzt im Colon und Coecum des Pferdes in Holland aufgefundenen Strongyliden erstattete, sei hier nur eine kurze Beschreibung einer neuen Art gegeben, welche den Typus einer neuen Gattung, **Hexodontostomum**, bildet und die ich H. **markusi** nennen möchte, zur Erinnerung an meinen verdienstvollen Kollegen Dr. H. **Markus**, Prof. der pathologischen Anatomie und allgemeinen Pathologie an der tierärztlichen Hochschule in Utrecht und Mitglied der Kommission, der im

Anfang dieses Jahres nach kurzer Krankheit in noch jugendlichem Alter starb.

Die neue Gattung gehört zur Unterfamilie der Cylicostominae (Cylicostomeae) und ist Cylicostomum nahe verwandt. Zu dieser Unterfamilie gehören außer den von Railliet et Henry (1912. p. 565) genannten Gattungen Cylicostomum Railliet, Oesophagodontus Railliet et Henry, Gyalocephalus Looss, Triodontophorus Looss, Eucyathostomum Molin noch Cylindropharynx Leiper (1911) aus dem Zebra und die im Elefanten aufgefundenen Gattungen Choniangium Railliet, Henry et Bauche (= Asifia Lane), Equinurbia Lane, Murshidia Lane und Amira Lane (cf. Ihle, 1919. S. 101, 102).

Die wichtigsten Merkmale der neuen Gattung sind folgende: Die äußere Blätterkrone besteht aus sehr zahlreichen, kleinen Elementen, die der inneren Blätterkrone sind weniger zahlreich und sehr groß; von letztgenannten springen 6 deutlich nach innen hervor. Der mediale Ast (D_1) der dorsalen Rippe ist nach hinten gerichtet; die übrigen Aeste (D_2, D_3) und die externo-dorsale Rippe verlaufen seitlich und sind einander fast parallel.

Das ♂ der neuen Art ist ungefähr 13,5 mm lang: die maximale Dicke beträgt ungefähr 600 bis 650 μ.

Fig. 1.

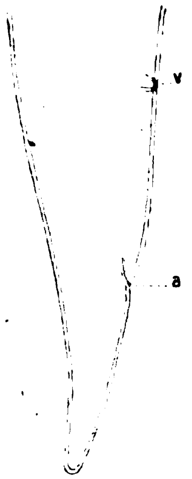


Fig. 2.

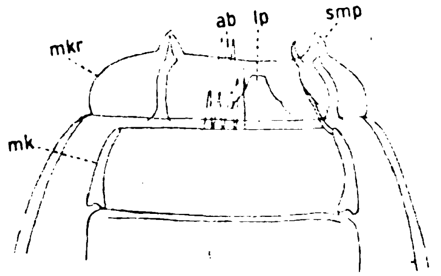


Fig. 1. Hinteres Körperende des ♀ von der Seite gesehen. × 64 (× 1/2). *a* = After: *v* = Vulva.

Fig. 2. Vorderes Körperende von der Seite gesehen. × 265 (× 1/2). *ab* = 3 Elemente der äußeren Blätterkrone; *lp* = laterale Papille; links davon sind 4 Elemente der inneren Blätterkrone gezeichnet, von welchen eines weit nach vorn hervorragt; *mk* = Mundkapselwand; *mkr* = Mundkragen; *smp* = submediane Papille. An der rechten Seite der Figur sind die Blätterkronen im optischen Durchschnitt sichtbar.

Das ♀ erreicht eine Länge von 14—17 mm. Ein Exemplar von 17 mm Länge hat eine maximale Dicke von ungefähr 900 μ. Die Dicke wird bis zur Höhe des Afters allmählich geringer, hinter welchem der Körper in eine abgerundete Spitze ausläuft (Fig. 1). Die Vulva ist ungefähr 1340—1700 μ vom hinteren Körperende entfernt. Die Vagina ist kurz. Die Uteri sind einander parallel. Der After ist 645—850 μ vom Hinterende entfernt; diese Entfernung ist dem Abstand zwischen After und Vulva ungefähr gleich.

Die Cuticula ist geringelt.

Der hohe Mundkragen (Fig. 2) ist deutlich gegen den vorderen Teil des Körpers abgesetzt. Die Mundöffnung ist länglich; die dorso-ventrale Achse länger als die transversale. Die 4 submedianen Mundpapillen weichen in ihrer Gestalt von der in der Gattung Cylicostomum ab. Mit breiter Basis sitzen sie dem vorderen Mundrande auf; nach der Spitze zu werden sie allmählich schmäler. Die Spitze kann sich ungefähr 16 μ über den vorderen Mundrand erheben. Die lateralen Papillen erheben sich kaum über die Oberfläche des Mundkragens. Die äußere Blätterkrone enthält viel zahlreichere Elemente als in der Gattung Cylicostomum. Ich zählte in 2 Fällen resp. 75 und 78 Elemente. Die letztgenannten sind schlank und spitz und viel kleiner und schmäler als die sehr großen Elemente der inneren Blätterkrone, deren Zahl in 2 Fällen resp. 43 und 45 betrug. Letztgenannte Elemente sitzen dem vorderen Rande der Mundkapselwand auf.

Sehr merkwürdig ist, daß von den Elementen der inneren Blätterkrone 6 bedeutend größer sind als die übrigen. Wenn man die Mundöffnung von vorn betrachtet, sieht man, wie diese 6 Elemente weit nach innen hervorragen, so daß sie den Eingang zur Mundkapsel einengen. Nach vorn reichen sie ungefähr bis zum vorderen Mundrand. Von ihnen sind 2 lateral und 4 submedian gestellt; sie stimmen also in der Anordnung mit den Mundpapillen überein. Diese 6 Zähne veranlassen mich, die neue Gattung Hexodontostomum zu nennen.

Die Mundkapsel ist untief, denn im Verhältnis zur Länge ihrer dorso-ventralen Achse (bis 0,2 mm) ist die Längsachse (= 70 μ) nur kurz. Die Mundkapselwand nimmt hinten an Dicke zu. Die Mundkapsel besitzt eine kurze, aber gut entwickelte „dorsale Rinne“. Ihre Länge scheint etwas variabel zu sein; höchstens erreicht ihr vorderes Ende die Mitte zwischen dem vorderen und hinteren Mundkapselrand.

Die Länge des Oesophagus beträgt 650 bis 800 μ. Seine Breite nimmt hinter der Mundkapsel etwas ab, um vor der Mitte wieder beträchtlicher zu werden. Ein Oesophagealtrichter ist vorhanden.

Fig. 3.

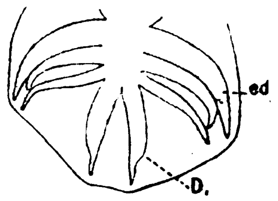


Fig. 4.

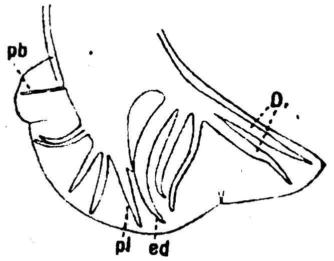


Fig. 3. Hinterer Teil der Bursa copulatrix von der dorsalen Seite gesehen. × 64 (× $^1/_2$). *ed* = externo dorsale Rippe; D_1 = Hauptast der dorsalen Rippe.

Fig. 4. Bursa copulatrix von der linken und etwas von der dorsalen Seite gesehen. × 64 (× $^1/_2$). D_1 = Hauptäste der dorsalen Rippe; *ed* = externo-dorsale Rippe; *pb* = präbursale Papille; *pl* = postero-laterale Rippe.

Die Bursa copulatrix (Fig. 3, 4) ist kurz und breit. Der mediane Lappen ist nicht von den seitlichen getrennt, welche ventro-median unterbrochen sind. Der Rand der Bursa ist wenigstens teilweise fein gezähnelt.

Sehr eigentümlich ist der Verlauf der Rippen der Bursa. Die dorsalen Rippen bilden zusammen eine Gruppe; die lateralen und ventralen Rippen eine zweite Gruppe. Die dorsalen Rippen entspringen einem gemeinsamen Stamme, welcher nach hinten die Hauptäste D_1 und seitlich die Aeste D_2, D_3 und die externo-dorsalen Rippen abgibt. Sie schließen mit ihren Basen aneinander. Es ist ein wichtiges Merkmal dieser Art, daß D_2, D_3 und die externo-dorsale Rippe fast senkrecht auf D_1 stehen und einander parallel in seitlicher Richtung verlaufen. Der distale Teil von D_1 ist dünn. Das Ende von D_3 liegt weiter vom Rande der Bursa entfernt als die Enden der übrigen dorsalen Rippen. Das kurze Endstück von D_3 und der distale Teil der externo-dorsalen Rippe sind nach hinten gekrümmt. Diese Krümmung der externo-dorsalen Rippe findet man auch bei Cylicostomum. Die postero-laterale Rippe hat einen eigentümlichen, kurzen, akzessorischen, nach hinten gerichteten Zweig, welchen man auch bei Oesophagodontus robustus (Boulenger 1916. p. 436), Choniangium epistomum (= Asifia vasifa Lane 1914. p. 385) und Oesophagostomum radiatum (Ransom 1911. p. 44) findet.

Den Genitalconus werde ich ausführlicher beschreiben, wenn später eine größere Zahl von Männchen vorliegt. Er besitzt einen gut entwickelten Dermalkragen mit langen, präbursalen Papillen. Die Spicula sind lang und dünn; ihr Ende trägt einen doppelten Haken, wie bei Cylicostomum. Sie scheinen in einer Scheide eingeschlossenzu sein.

Bis jetzt wurde H. markusi in 6 Fällen im Coecum, Colon und Rectum von Pferden aufgefunden.

Nachschrift.

Nachdem das Manuskript dieses Aufsatzes schon längst der Redaktion zugesandt war, erschien im 6. Heft des 83. Bandes (S. 466) dieser Zeitschrift eine Abhandlung von G. Quiel über „Poteriostomum n. g., eine neue, beim Pferde parasitierende Nematodengattung“. Es ist nun nicht zweifelhaft, daß Poteriostomum imparidentatum mit meinem Hexodontostomum markusi identisch ist; letztgenannter Name ist also als Synonym zu betrachten. Ich bemerke, daß die 2. von Quiel beschriebene Art P. pluridentatum mir keine selbständige Art zu sein scheint, sondern nur eine individuelle Variation von P. imparidentatum mit zahlreichen Elementen der inneren Blätterkrone.

Literatur.

Boulenger, C. L., Sclerostome parasites of the horse in England. I. (Parasitology. Vol. 8. 1916.)

Ihle, J. E. W., Ueber Ancylostoma perniciosum v. Linstow und die Strongyliden des Elefanten. (Bijdr. tot de dierkunde. Afl. 21. 1919.)

— Tijdsch. Nederl. Dierk. Vereen. Dl. 18. 1919a.

Lane, Cl., Bursate Nematodes from the Indian elephant. (Indian Journ. med. Research. Vol. 2. 1914.)

Leiper, R. T., Some new parasitic Nematodes from tropical Africa. (Proc. zool. Soc. London 1911.)

Railliet, A., et Henry, A., Les Oesophagostomiens parasites de l'homme. (Arch. de parasitol. T. 14. 1912.)

Ransom, B. H., The Nematodes parasitic in the alimentary tract of cattle, sheep and other ruminants. (U. S. Depart. Agricult., Bur. anim. Industr. Bull. 127. 1911.)

Nachdruck verboten.

Ueber den Einfluss von Präzipitin auf Toxin-Antitoxinverbindungen.

[Aus dem staatl. sero-therapeut. Institut in Wien (Vorstand: Hofrat Prof. R. Paltauf).]

Von Prof. **M. Eisler.**

Versuche von Dehne und Hamburger (1), Kraus und Pribram (2), Eisler und Tsuru (3), zuletzt von Landsteiner und Prasek (4) haben gezeigt, daß spezifische Präzipitine in Antikörper enthaltendem Serum unter bestimmten Bedingungen Verluste dieser bewirken können, so daß man berechtigt ist, eine nahe Beziehung zwischen Antikörper und Präzipitinogen, eventuell eine Identität beider, anzunehmen. Ferner geht aus diesen Versuchen hervor, daß schon die

Bindung von Präzipitin und Präzipitinogen, ohne daß es zu einer sichtbaren Fällung kommt, genügt, um den Antikörper unwirksam zu machen. Durch die erwähnten Untersuchungen wurden zwar die näheren Bedingungen, unter denen solche Antikörperverluste eintreten können, erforscht; es gelang aber nicht, in diesen Vorgang selbst Einblick zu gewinnen, da wir ja auch nicht wissen, an welcher Gruppe des Präzipitinagens das Präzipitin angreift. Die nächstliegende Erklärungsmöglichkeit, daß durch das Präzipitin die bindenden Gruppen der Antikörper für ihr Antigen besetzt werden, muß schon wegen der weitgehenden Spezifität der in Betracht kommenden Prozesse fallen gelassen werden. Man ist also gezwungen, sich mit der Feststellung der Tatsache zu begnügen, daß durch den Eintritt des Präzipitins in den mit Antikörperfunktion ausgestatteten Komplex diese Funktion verloren geht.

Eine andere Frage ist es, ob das Präzipitin auch dann, wenn bereits die Verbindung zwischen dem Antikörper und seinem spezifischen Antigen stattgefunden hat, noch einen solchen Einfluß auf den Antikörper ausüben kann, der sich in einem Freiwerden von Antigen anzeigen könnte. Denn so wie die Bindung der Präzipitine an das Präzipitinogen die Antikörperfunktion des letzteren aufhebt, wäre es auch möglich, daß der betreffende Antikörper nach Bindung seines Antigens für das Präzipitin nicht mehr angreifbar ist. Zur Entscheidung dieser Frage wurden Verbindungen verschiedener Toxine, solcher, die in vivo wirken, und eines, das in vitro wirksam ist, in dieser Richtung untersucht. Bevor der Einfluß des Präzipitins auf die betreffende Toxin-Antitoxinverbindung untersucht werden konnte, war es notwendig, zunächst in jedem Falle zu prüfen, ob das verwendete Präzipitin in dem betreffenden antitoxischen Serum Antikörperverlust verursacht, da wir aus den eingangs zitierten Arbeiten wissen, daß nicht jedes Präzipitin bei Zusatz zu einem antikörperhaltigen Serum, trotz Niederschlagsbildung, eine Verminderung dieser Körper bedingt. Zur Untersuchung der Toxin-Antitoxinverbindungen wurden daher nur solche Präzipitine benutzt, welche obige Bedingung erfüllten, da nur von einem solchen eine eventuelle Wirkung auf die neutrale Verbindung erwartet werden konnte.

Tetanustoxin.

Das Tetanus-Pferdeimmunserum Orchis, von dem 0,00002 ccm imstande waren, 0,00002 g eines Tetanustrockengiftes für die Maus zu neutralisieren, wurde so stark verdünnt, daß 1 ccm der Verdünnung 0,0002 ccm Serum enthielt. Je 1,5 ccm einer solchen Verdünnung wurden mit je 0,3 ccm Präzipitin No. 243 und No. 260 versetzt. Nach 1-stündiger Einwirkung wurde der entstandene Niederschlag abzentrifugiert und von dem klaren Abguß 1 ccm, entsprechend 0,0002 ccm Serum, und 0,5 ccm, entsprechend 0,0001 ccm Serum, mit je 0,00002 g Toxin gemischt und nach $^1/_2$-stündiger Bindung Mäusen injiziert. Gleichzeitig wurde eine Mischung von 0,00002 g Toxin mit 0,00002 ccm des unvorbehandelten Serums Orchis und die betreffende Toxinmenge ohne Serumzusatz injiziert.

Versuch am 6. Okt. 1918.

0,00002 g Toxin	+ 0,00002 ccm Serum Orchis	8. θ	9. θ	11. θ	12. θ	
dgl.	+ 1 ccm Abguß Präzipit. No. 243	8. ?	9. Tet.	11. Tet.	12. Tet.	überlebt
„	+ 0,5 „ dgl.	8. Tet.	9. Tet.	11. Tet.	12. Tet.	13 †
„	+ 1 „ Abguß Präzipit. No. 260	8. θ	9. θ	11. θ	12. θ	
„	+ 0,5 „ dgl.	8. θ	9. θ	11. θ	12. θ	
„	+ 1 „ Kochsalzlösung	8. Tet.	9. †			

Durch die Einwirkung des Präzipitins No. 243 war also so viel Antitoxin unwirksam geworden, daß selbst die 10-fache Menge der sonst neutralisierenden Serumdosis nicht mehr das Toxin unschädlich machen konnte, die 5-fache Menge nicht einmal mehr den Tod der Maus zu verhindern vermochte. Dagegen konnte durch das Präzipitin No. 260 unter den gleichen Bedingungen kein Antitoxinverlust nachgewiesen werden.

Zu dem folgenden Versuche wurde daher Präzipitin No. 243 verwendet. Je 0,0002 g Toxin wurden mit je 0,0002 ccm Serum Orchis gemischt. Eine solche Mischung enthält je 10 einfache Toxindosen und die zu deren Neutralisation erforderliche Serummenge. Nach $1^1/_2$-stündiger Bindungszeit wurde eine solche Mischung einer Maus injiziert, eine 2. mit 0,3 ccm Präzipitin No. 243 versetzt, 1 weitere Stunde stehen gelassen und dann zentrifugiert. Die über dem Niederschlag befindliche Flüssigkeit wurde abgegossen, der Niederschlag in Kochsalzlösung aufgenommen und beide Flüssigkeiten Mäusen injiziert.

Versuch am 9. Okt. 1918.

0,0002 g Toxin + 0,0002 ccm Serum Orchis	10. θ	12. θ	14. θ
Abguß von Präzipit. No. 243	10. l. Tet.	11. Tet.	12. †
Sediment von Präzipit. No. 243	10. θ	12. θ	14. θ

Dieser Versuch zeigt, daß der Abguß von Präzipitin No. 243 freies Toxin enthält, während die gleiche Mischung von Toxin und Antitoxin ohne Präzipitinzusatz für eine Maus vollständig neutral ist. Im aufgeschwemmten Niederschlag war kein Toxin nachweisbar.

Aehnliche Versuche wurden mit dem Tetanusimmunserum von Pferd Urtier und einem anderen Präzipitin No. 39 gemacht. Von diesem Serum waren 0,000025 ccm erforderlich, um 0,00002 g des Trockengiftes für eine Maus zu neutralisieren. Eine Verdünnung dieses Serums, welche 0,00025, d. i. als 10 neutralisierende Dosen enthielt, wurde versetzt mit 0,2 ccm Präzipitin 39. Das Gesamtvolumen betrug 1,2 ccm. Nach 1-stündiger Einwirkung wurde der Niederschlag abzentrifugiert, vom Abgusse 0,8 und 0,2 ccm, die, wenn kein Verlust eingetreten wäre, 7 bzw. $1^1/_2$ neutralisierende Dosen enthalten mußten, mit je 0,00002 g Toxin versetzt und nach $^1/_2$-stündiger Bindung Mäusen injiziert. Ebenso wurde eine Mischung von 0,000025 ccm des Serums mit 0,00002 g Toxin nach $^1/_2$-stündiger Bindung und 0,00002 g des Giftes ohne Serumzusatz eingespritzt.

Versuch am 26. Febr. 1919.

0,00002 g Toxin	+ 0,000025 ccm Serum Urtier	28./II. θ	2./III. θ
dgl.	+ 0 8 ccm Abguß vom Präzipit. No. 39	27. Tet.	28. †
„	+ 0,2 „ dgl.	27. „	28. †
„	+ 0,8 „ Kochsalzlösung	27. „	28. †

Selbst 0,8 ccm des Abgusses, die laut Rechnung 7 neutralisierende Dosen enthalten sollten, waren nicht imstande, den Tod der Maus gegenüber dem Kontrolltier, welches die gleiche Toxinmenge ohne Serum erhalten hatte, zu verzögern. Es dürfte daher alles in 1 ccm der Verdünnung enthaltene Antitoxin durch das Präzipitin unwirksam geworden sein.

Nach dem positiven Ausfalle dieses Vorversuches konnte die Wirkung des Präzipitins auf neutrale Gemische dieses Serums mit Toxin untersucht werden. Es wurden 0,00025 ccm Serum mit je 0,0002 g Toxin, d. i. also wieder je 10 einfache Dosen, gemischt und $^1/_2$ Std. bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Dann wurde eine solche Mischung zur Prüfung der Neutralität einer Maus injiziert. Eine zweite Probe wurde mit 0,2 ccm Präzipitin No. 39 versetzt und nach 1-stündiger Einwirkung zentrifugiert, der Abguß und das in 1 ccm Kochsalzlösung aufgeschwemmte Sediment Mäusen injiziert. Einer weiteren derartigen Probe wurden 0,2 ccm normales Kaninchenserum statt des präzipitierenden Serums zugefügt und die Flüssigkeit nach 1 Std. einer Maus eingespritzt. Eine 4. solche Toxin-Antitoxinmischung wurde erst nach 3-stündigem Stehen bei Zimmertemperatur mit 0,2 ccm Präzipitin versetzt, weitere $4^1/_2$ Std. aufbewahrt und dann in derselben Weise wie die 2. Probe behandelt. Da diese Probe vor der Injektion ungefähr 8 Stunden bei Zimmertemperatur gestanden war, wurde, um eine während dieser Zeit eventuell eingetretene Abschwächung des Toxins nachweisen zu können, gleichzeitig eine Portion derselben Toxinlösung ohne Zusatz aufbewahrt und davon nach 8 Std. 0,00002 g einer Maus injiziert.

Versuch am 3. März 1919.

0,0002 g Toxin + 0,00025 ccm Serum Urtier	4. θ 6. θ 7. θ
dgl. + 0,00025 „ Ser. Urtier + 0,2 norm. Kan.-S.	4. θ 6. θ 7. θ
Abguß von Mischung, die nach $^1/_2$-std. Bindung mit Präzipit. versetzt wurde	4. θ 5. Tet. 6. †
Sediment von Mischung, die nach $^1/_2$-std. Bindung mit Präzipit. versetzt wurde	4. θ 5. Spur Tet. 7. Tet. 9. Tet.
Abguß von Mischung, die nach 3-std. Bindung mit Präzipit. versetzt wurde	4. θ 5. θ 6. θ 7. θ
Sediment von Mischung, die nach 3-std. Bindung mit Präzipit. versetzt wurde	4. θ 5. θ 6. θ 7. θ
0,0002 g Toxin + Kochsalzlösung	4. Tet. 5. †

Es gelingt also auch aus einer neutralen Mischung dieses Serums mit Toxin, die $^1/_2$ Std. gestanden ist, durch Zusatz von Präzipitin wieder Toxin freizumachen, und zwar ist in dem Abguß genügend Toxin vorhanden, um eine Maus in 3 Tagen zu töten. Auch in der Aufschwemmung des Sedimentes war in diesem Versuche noch Toxin nachweisbar, allerdings nur so viel, um die schwere Erkrankung einer Maus an Tetanus, aber ohne tödlichen Ausgang, herbeizuführen. In dem früher angeführten Versuche mit Serum Orchis und Präzipitin No. 249 war in der Aufschwemmung des Sedimentes kein freies Toxin nachweisbar. Der Antitoxinverlust dieses Serums durch Präzipitin No. 249 war aber auch geringer wie bei Serum Urtier und Präzipitin No. 39. Das Präzipitin vermag zwar aus der neutralen Mischung nach $^1/_2$-stündiger Bindung, nicht mehr aber nach 3-stündiger Bindungszeit Toxin freizumachen, wobei zu bemerken ist, daß bei Mischungen dieses Serums mit Toxin nach $^1/_2$-stündiger Bindungszeit selbst 0,1 ccm des Präzipitins genügt [1], um schon nach 1 stündiger Einwirkung eine tödliche Menge des Giftes im Abgusse erscheinen zu lassen, während die Abgüsse derselben Mischungen nach 3-stündiger Bindungszeit selbst nach $4^1/_2$-stündiger Einwirkung von 0,2 ccm Präzipitin ungiftig sind. Diese Wirkungslosigkeit der Abgüsse ist nicht etwa auf eine durch die 8-stündige Aufbewahrung bei Zimmertemperatur erfolgte Abschwächung des Giftes zurückzuführen, da der Kontrollversuch mit derselben Giftlösung ohne Zusatz innerhalb dieser Zeit keine Abnahme der Wirksamkeit erkennen ließ.

Normales Kaninchenserum vermag, wie ja zu erwarten war, die Neutralität von Toxin-Antitoxinverbindungen auch nach nur $^1/_2$-stündiger Bindungszeit nicht zu alterieren.

---

[1] Da dieser Versuch ganz ähnlich dem bereits mitgeteilten verlief, wird mit Rücksicht auf die derzeitigen Verhältnisse die genaue Wiedergabe des Protokolls unterlassen.

Die in den angeführten Versuchen beobachtete Erscheinung, daß neutrale Tetanustoxin-Antitoxinmischungen durch Zusatz eines entsprechenden Präzipitins wieder giftig werden, ist wohl nur so zu erklären, daß durch die Bindung des Präzipitins an das Präzipitinogen eine Abschwächung des Antitoxins eintritt, die sich in dem Giftigwerden des Gemisches anzeigt.

Nun haben wir aber gesehen, daß das Antitoxin unter den eingehaltenen Versuchsbedingungen durch Präzipitin No. 39 fast vollständig unwirksam wird, während in dem neutralen Toxin-Antitoxingemisch, je nach der Dauer der Bindung, kein oder schätzungsweise bloß $^1/_{10}$ bis höchstens $^1/_5$ der ursprünglich zugesetzten Toxinmenge nachweisbar wird, also jedenfalls viel weniger, als der Wirkung des Präzipitins auf das freie Antitoxin entsprechen würde, was anscheinend als eine fehlende oder schwache Wirkung des Präzipitins auf das gebundene Antitoxin gedeutet werden könnte.

Trotzdem ist es nicht möglich, auf Grund der bisher mitgeteilten Versuche eine eindeutige Entscheidung der eingangs aufgeworfenen Frage, ob der Antikörper nach Verbindung mit seinem Antigen für das Präzipitin noch angreifbar ist, zu treffen. Denn der in diesen Versuchen erhobene Befund, daß das Präzipitin in neutralen Tetanustoxin-Antitoxingemischen mit nur $^1/_2$-stündiger Bindungszeit noch Antitoxinverlust, wenn auch nur mäßigen Grades, bedingt, nicht mehr aber in denselben Mischungen mit längerer Bindungszeit von festerer Zusammensetzung, kann auf zweierlei Weise erklärt werden: 1) das Präzipitin tritt in das mit Toxin verbundene Antitoxin ebenso ein, wie in das freie, das bereits spezifisch gebundene Toxin wird aber nur mehr zum Teil — vorausgesetzt, daß noch keine Verfestigung des Gemisches eingetreten ist — von dem durch das Präzipitin beschlagnahmten Antitoxin getrennt und dadurch dem Nachweise zugänglich; 2) das Präzipitin ist überhaupt nicht mehr, oder in dem Falle der noch lockeren $^1/_2$-stündigen Bindungszeit, nur mehr in geringem Grade imstande, zu dem Antitoxin in Beziehung zu treten, wodurch die fehlende, bzw. nur schwache Toxität des Gemisches ohne weiteres verständlich wird.

Da nun die Antikörper eines Immunserums nur einen geringen Bruchteil des Gesamteiweißes des Serums ausmachen (vgl. Landsteiner und Prasek (4), läßt sich, auch wenn die zweite der beiden erörterten Möglichkeiten, nämlich das Ausbleiben der Präzipitinwirkung auf den Antikörper, zutrifft, eine merklich geringere Niederschlagsbildung durch das Präzipitin nicht erwarten. Die Entscheidung läßt sich also nur so treffen, daß der Nachweis für das Vorhandensein — erstere Möglichkeit — oder Fehlen — zweite Möglichkeit — von Antitoxin bzw. Toxin im Präzipitate erbracht wird. Durch den Toxinnachweis wäre ja auch die Fällung von Antitoxin durch das Präzipitin bewiesen, da dieses das Toxin allein nicht fällen kann. Es lag also die Aufgabe vor, die im Präzipitate eventuell vorhandene Toxin-Antitoxinverbindung zu sprengen, und so das Toxin in Freiheit zu setzen. Nach Versuchen von Morgenrot und seinen Mitarbeitern gelingt es, durch Säurezusatz verschiedene Toxine (Cobragift, Abrin, Diphtheriegift) aus ihren neutralen Mischungen mit Antitoxin wiederzugewinnen. Für das Tetanustoxin ist aber diese Versuchsanordnung wegen seiner Labilität in Verdünnungen und großen

Säureempfindlichkeit weniger geeignet. Daher muß an dieser Stelle auf die im folgenden Abschnitte angeführten Versuche mit Diphtheriegift, die zur Entscheidung der aufgeworfenen Frage angestellt wurden, verwiesen werden.

Nachdem die bisherigen Versuche gezeigt hatten, daß es möglich ist, aus einer neutralen Tetanustoxin-Antitoxinverbindung nach $^1/_2$ Std. noch Toxin freizumachen, war noch zu untersuchen, ob auch ein unspezifisches Fällungsmittel für das Antitoxin dieselbe Wirkung auszuüben vermag. Zu diesem Zwecke wurde eine Mischung von 0,004 g Tetanustoxin entsprechend 200 letale Dosen für 300 g schwere Meerschweinchen, mit 0,0035 ccm antitoxischem Serum gemischt. Eine solche Probe wurde nach $^1/_2$-stündigem Stehen bei Zimmertemperatur einem Meerschweinchen injiziert. Eine 2. derartige Probe wurde nach $^1/_2$-stündiger Bindungszeit mit dem gleichen Volumen gesättigter Ammonsulfatlösung versetzt. Bei der dadurch erreichten Sättigung von 50 Proz. wird das Antitoxin bekanntlich gefällt, während das Toxin allein zum größten Teile erst bei vollständiger Sättigung zum Ausflocken gebracht wird. Der entstandene Niederschlag wurde abzentrifugiert und die überstehende klare Flüssigkeit einem Meerschweinchen injiziert. Beide Tiere bleiben frei von Tetanus. Obwohl also in dem betreffenden Gemisch eine bedeutende Menge von Toxin (200 letale Dosen) enthalten war, gelang es nicht, durch die Ammonsulfatfällung aus der neutralen Verbindung selbst nach nur $^1/_2$-stündiger Bindungszeit auch nur so viel Toxin freizumachen, daß das hochempfindliche Meerschweinchen tetanische Erscheinungen gezeigt hätte. Das Toxin wird offenbar zusammen mit dem Antitoxin ausgefällt, so daß die überstehende Flüssigkeit nicht giftig ist. Aus diesem Versuche folgt, daß das Ammonsulfat unter den gleichen Bedingungn wie das Präzipitin kein Toxin aus einer neutralen Tetanustoxin-Antitoxinverbindung abzuspalten vermag. Diese Wirkung des Präzipitins ist also, wie schon früher hervorgehoben wurde, nur durch dessen Beeinträchtigung der Antitoxinfunktion, nicht aber durch die von ihm bewirkte Fällung zu erklären. Denn nicht nur in dem vom Präzipitate durch Zentrifugieren gewonnenen Abgusse, sondern auch im Präzipitate selbst ist, wie der Versuch mit dem stark wirksamen Präzipitin No. 39 zeigt, noch Toxin nachweisbar. Es wurde also im Tierkörper aus dem Niederschlage, der Toxin + Antitoxin enthielt, unter dem Einflusse des Präzipitins noch Toxin abgespalten.

Andererseits wurde auch der Versuch gemacht, ob es möglich ist, aus dem mit spezifischem Präzipitin im Tetanusimmunserum erhaltenen Niederschlag durch Zusatz von Toxin Antitoxin freizumachen.

Versuch am 19. April 1919.

0,00025 ccm Serum Urtier wurden mit 0,2 ccm Präzipitin No. 39 versetzt; das Volumen betrug 1,2 ccm. Die Probe blieb $^3/_4$ Std. bei 36° C, dann wurde sie zentrifugiert. Vom Abgusse wurden 0,8 ccm mit 0,00002 g Toxin versetzt, das Sediment in 1 ccm Kochsalzlösung aufgeschwemmt, davon 0,6 und 0,2 ccm mit je 0,00002 g Toxin gemischt, schließlich dieselbe Toxinmenge mit 0,000025 ccm Serum Urtier, also mit $^1/_{10}$ der Menge, die in der Präzipitinprobe enthalten war, zusammengebracht. Nach $^1/_2$-stündiger Bindung wurden die Proben weißen Mäusen injiziert.

0,00002 g Toxin	+ 0.000025 ccm Serum Urtier	20. θ 21. θ 22. θ
dgl.	+ 0,8 ccm Abguß	20. Tet. 21. †
„	+ 0.6 „ Sedimentaufschwemmung	20. „ 21. †
„	+ 0,2 „ „	20. „ 21. †

Der Versuch zeigt, daß $^1/_{10}$ der in der Präzipitinprobe enthaltenen Serummenge genügt, um die Toxinmenge von 0,00002 g für die Maus zu neutralisieren und daß im Abguß des Präzipitates keine nennenswerten Mengen Antitoxin mehr enthalten sein konnten. Trotzdem waren auch 0,6 ccm der Präzipitataufschwemmung, welche nach der Berechnung mindestens 5 neutralisierende Dosen für die gewählte Toxinmenge enthalten mußten, nicht imstande, den Tod der Maus an Tetanus auch nur zu verzögern. Daraus muß geschlossen werden, daß unter den eingehaltenen Versuchsbedingungen eine Wiedergewinnung von Antitoxin aus dem Präzipitate nicht möglich ist. Ein ähnlicher Versuch von Kraus und Pribram (2), mit einem agglutininhaltigen spezifischen Niederschlage die betreffenden Bakterien auszuflocken, verlief ebenfalls negativ.

Anhangsweise möge hier auch noch ein Versuch erwähnt werden, der sich mit dem Einfluß des Präzipitins auf das Tetanusantitoxin in einem mit Formaldehyd versetzten Immunserum befaßt. Nach Versuchen von Eisler und Loewenstein (5) erleiden die Antitoxine, je nach der individuellen Beschaffenheit des betreffenden Serums, keine oder nur verhältnismäßig geringe Einbußen ihrer Wirksamkeit durch den Eintritt des Formols in das Eiweißmolekül, durch welches Verhalten sie sich von anderen Antikörpern unterscheiden. Ferner wurde in diesen Versuchen gezeigt, daß das mit Formaldehyd versetzte Serum durch spezifisches Präzipitin gut fällbar ist. Mit Rücksicht auf diese Umstände war es nicht ohne Interesse, festzustellen, ob in einem mit Formol behandelten Tetanusserum ein geeignetes Präzipitin die gleichen Antitoxinverluste erzeugt wie im vorbehandelten Serum.

Versuch am 28. März 1919.

Ein Tetanusimmunserum wurde mit 4 Prom. Formol versetzt und zugleich mit einer Probe desselben Serums ohne Zusatz 6 Tage im Brutschrank gehalten. Nach dieser Zeit war das Formolserum opaleszent, ein Zeichen für die Einwirkung des Formaldehyds. Von beiden Serumproben wurden je 1,5 ccm einer 1000-fachen Verdünnung versetzt mit 0,3 ccm Präzipitin L. Nach 2 Std. wurde zentrifugiert und die so gewonnenen Abgüsse auf ihren Antitoxingehalt untersucht. Gleichzeitig kamen auch die beiden Sera ohne Präzipitinzusatz zur Anwendung.

Injektion am 4. April 1919.

0,00002 g Toxin	+ 0,00001	ccm	Kontrollserum	6. Spur Tet.	8. Tet.	11. Tet.
dgl.	+ 0,00002	„	„	6. θ	8. θ	11. θ
„	+ 0,00001	„	Formolserum	6. Tet.	8. †	
„	+ 0,00002	„	„	6. l. Tet.	8. Tet.	11. Tet.
„	+ 0,00004	„	„	6. θ	8. θ	11. θ
„	+ 0,00001	„	Kontrollserum + Präzipitin	6. Tet.	8. †	
„	+ 0,00002	„	Kontrollserum + Präzipitin	6. ?	8. Tet.	10. †
„	+ 0,00004	„	Formolserum + Präzipitin	6. Tet.	7. †	
„	+ 0,0001	„	Formolserum + Präzipitin	6. Tet.	8. Tet.	9. †
„	+ Kochsalzlösung			6. Tet.	7. †	

In diesem Versuche hatte das Tetanusimmunserum durch die Formolbehandlung ungefähr die Hälfte seines antitoxischen Wertes verloren. Durch das Präzipitin war sowohl im vorbehandelten als auch im Formolserum eine Abnahme des Antitoxins eingetreten; im letzteren scheinbar eine etwas stärkere.

Diphtherietoxin.

3 verschiedene Diphtheriesera[1], ein 200-faches, ein 250-faches und ein 600-faches, wurden daraufhin untersucht, ob ein bestimmtes Präzipitin in ihnen Antitoxinverluste bewirkt. Zu diesem Zwecke wurden je 1 ccm einer 200-fachen Verdünnung der 200- und 250-fachen und je 1 ccm einer 600-fachen Verdünnung des 600-fachen Immunserums versetzt mit je 0,3 ccm Präzipitin No. 39 oder 0,3 ccm normalen Kaninchenserums. Nach 1-stündigem Aufenthalt der Proben bei 36° C wurden sie zentrifugiert und die klaren Abgüsse beziesungsweise bei den Proben mit normalem Kaninchenserum die ganze Flüssigkeit mit einer L+-Dosis = 0,33 ccm unseres Giftes versetzt, und nach $^1/_2$-stündiger Bindung Meerschweinchen injiziert.

Versuch am 9. April 1919.

200-faches Serum	+	Präzipitin No. 39	11. April	glatt	13. April	glatt
dgl.	+	Normalserum	11. „	glatt	13. „	glatt
250-faches Serum	+	Präzipitin No. 39	11. „	Infiltrat	13. „	großes Infiltr.
dgl.	+	Normalserum	11. „	glatt	13. „	glatt.
600-faches Serum	+	Präzipitin No. 39	11. „	† typischer Diphtheriebefund		
dgl.	+	Normalserum	11. „	glatt	13. April	glatt

Von den 3 geprüften Sera hatte das 200-fache durch Präzipitin No. 39 keinen Antitoxinverlust, das 250-fache einen geringen, das 600-fache einen beträchtlichen erlitten. Bei den ersteren beiden Sera waren die Chancen, Antitoxinverluste zu bewirken, schon wegen der geringeren Verdünnungsmöglichkeit ungünstigere.

In dem folgenden Versuche, der eine eventuelle Sprengung der neutralen Toxin-Antitoxinverbindung demonstrieren sollte, kam daher das 600-fache Serum und Präzipitin No. 39 zur Verwendung. Je 1 ccm einer 600-fachen Verdünnung dieses Serums wurde versetzt mit 0,33 ccm Toxin = L+-Dosis. Nach $^1/_2$-stündiger Bindung wurde eine solche Probe zur Prüfung der Neutralität einem Meerschweinchen injiziert. 2 weitere derartige Proben wurden versetzt mit je 0,3 ccm Präzipitin oder 0,3 ccm normalem Kaninchenserum und 1 $^1/_2$ Std. bei 36° C gehalten. Dann wurde zentrifugiert, von der mit Präzipitin versetzten Probe der Abguß und der in 2 ccm Kochsalzlösung aufgenommene Niederschlag, von der mit Normalserum versetzten Probe die ganze Flüssigkeit Meerschweinchen injiziert.

Versuch am 14. April 1919.

$^1/_{600}$ ccm Serum	+	0,33 ccm Toxin			16. April	glatt	18. April	glatt
dgl.	+	dgl.	+ 0,3 Präzipit	Abguß	16. „	„	18. „	„
				Sediment	16. „	„	18. „	„
dgl.	+	dgl.	+ 0,3 Normalserum		16. „	„	18. „	„

Durch den Zusatz von Präzipitin zu einer neutralen Mischung von Diphtherietoxin und Antitoxin war schon nach $^1/_2$-stündiger Bindungszeit eine Trennung nicht mehr möglich; es war also das gleiche Verhalten zu beobachten wie bei neutralen Tetanustoxingemischen mit 3-stündiger Bindungszeit, wogegen nach $^1/_2$ Std. für das Tetanustoxin noch eine Abspaltung durch Präzipitin möglich war.

Dieses differente Verhalten der beiden Toxine bei gleicher Versuchsanordnung dürfte in der verschiedenen Avidität derselben zu ihrem Antitoxin begründet sein. Bekanntlich ist diese für das Tetanustoxin nur eine schwache, so daß nach $^1/_2$ Std. noch die Trennung gelingt, während die Verbindung des Diphtherietoxins nach $^1/_2$ Std. schon fest genug ist, um einer Trennung zu widerstehen, sich also analog dem Tetanusgemisch mit längerer Bindungszeit verhält. E. Pick und Schwoner (6) teilen in ihrer Arbeit über toxolabile und toxostabile Diphtheriesera ebenfalls einen Versuch mit, indem ihnen die Zerlegung eines neutralen Gemenges aus einem toxolabilen Serum mit Diphtherietoxin durch Erzeugung eines spezifischen Präzipitates nicht gelungen ist. Da aber zu dieser Zeit die näheren Bedingungen, unter denen Antikörperverluste durch spezifisches Präzipitin eintreten, noch nicht näher erforscht waren, insbesondere die Tatsache, daß nicht jedes Präzipitin trotz Niederschlagsbildung Antikörperverlust bedingt, unbekannt war, haben die Autoren auch nicht untersucht, ob das von ihnen zur Zerlegung des neutralen Gemisches verwendete Präzipitin in dem betreffenden Serum tatsächlich Antitoxinverlust verursacht, so daß dem negativen Ausfall dieses einzigen Versuches keine entscheidende Bedeutung zugeschrieben werden konnte.

---

[1] Die Diphtheriesera sind, wie im Institute üblich, auf den Glattwert geprüft, d. h. die Mischung des Serums mit der L+-Dosis ist für das Meerschweinchen unschädlich.

Nachdem durch die angestellten Versuche erwiesen ist, daß ein neutrales Gemisch von Diphtherietoxin und Antitoxin schon nach $^1/_2$ Std. nicht mehr so weit zerlegbar ist, daß der Nachweis von Toxin durch subkutane Injektion beim Meerschweinchen möglich ist, war nun die Entscheidung zu treffen, worauf diese Unmöglichkeit beruht. Auf Grund der bei den Versuchen mit Tetanustoxin gemachten Ueberlegungen wurde daher versucht, im Präzipitate durch Säure eine Abspaltung des Toxins vorzunehmen, ein Versuch, der für das Tetanustoxin wegen seiner großen Säureempfindlichkeit nicht durchgeführt wurde. Da solche Versuche bei Meerschweinchen negativ verliefen, wurden dieselben nach dem Vorgange von Morgenroth und Willanen (7) bei Kaninchen mit intravenöser Injektion wiederholt.

Versuch am 2. Juni 1919.

Von dem in den früheren Versuchen verwendeten 600-fachen Serum wurde eine Verdünnung hergestellt, die in 1 ccm eine I.-E. enthielt. 3 ccm dieser Verdünnung wurden mit 0,99 ccm des Diphtheriegiftes, also mit 3 L+-Dosen, versetzt und 16 Std. bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Das Volumen betrug 4 ccm. Nach 16 Std. wurde $^1/_3$ der Flüssigkeit zur Feststellung der Neutralität einem Kaninchen intravenös injiziert. Das zweite Drittel wurde mit 0,4 ccm Präzipitin No. 39 versetzt, 2 Std. stehen gelassen und dann zentrifugiert. Das Sediment wurde in 2 ccm Kochsalzlösung aufgenommen und ebenso wie der Abguß mit so viel Salzsäure versetzt, daß die Azidität einer n/100 HCl entsprach. Das letzte Drittel der aufgestellten Toxin-Antitoxinmischung wurde ebenfalls auf eine Azidität von n/100 Salzsäure gebracht. Alle 3 Proben blieben hierauf behufs Einwirkung der Säure 22 Std. bei Zimmertemperatur; dann wurden die Proben intravenös Kaninchen injiziert. Von der letzten Probe wurde bloß der vierte Teil eingespritzt, um zu sehen, ob in dieser Menge durch die Säure aus dem Gemisch schon eine tödliche Giftdosis abgespalten worden sei.

Kaninchen No. 1333 (1500 g) erhält am 3. Juni nach 16 Std. Bindung $^1/_3$ der Toxin-Antitoxinmischung, entsprechend 1 I.-E. + L+-Dosis. Es bleibt gesund.

Kaninchen No. 1634 (1600 g) wird am 4. Juni mit der angesäuerten Aufschwemmung des Sedimentes injiziert. Am 6. Juni früh tod. Sektionsbefund: Leicht gerötete Nebennieren, sonst negativ.

Kaninchen No. 1679 (1800 g) bekommt am 4. Juni den sauren Abguß des Sedimentes. Bleibt gesund.

Kaninchen No. 288 (1500 g) erhält am 4. Juni $^1/_4$ des angesäuerten Toxin-Antitoxingemisches. Bleibt gesund.

Der Versuch zeigt, daß die aufgestellte Toxin-Antitoxinmischung für Kaninchen vollständig neutral ist, daß im Präzipitate einer solchen Mischung durch Säure genügend Toxin freizumachen ist, um ein Kaninchen innerhalb 48 Std. zu töten, daß unter den gleichen Bedingungen im Abgusse des Präzipitates kein Toxin nachweisbar ist. Auch im vierten Teile der Toxin-Antitoxinmischung war nach der Säurewirkung keine Giftwirkung für das Kaninchen festzustellen.

Versuch am 12. Juni 1919.

Von einer gleichen Toxin-Antitoxinmischung wie im früheren Versuche wurde nach 21 Std. Bindung die eine Hälfte, welche eine I.-E. + 1 L+-Dosis enthielt, mit Präzipitin No. 39 versetzt und, wie im Versuche vom 2. Juni, weiter behandelt, die zweite Hälfte nur mit Säure versetzt. Nach 22-stündiger Einwirkung der Säure wurde die Präzipitinaufschwemmung und die bloß mit Säure versetzte Probe Kaninchen intravenös injiziert.

Kaninchen No. 681 (1650 g), injiziert am 14. Juni, mit saurer Aufschwemmung des Präzipitates. Am 17. Juni früh tot gefunden. Sektionsbefund: Nieren hyperämisch, etwas geschwollen, sonst negativ.

Kaninchen No. 409 (1500 g), injiziert am 14. Juni mit dem angesäuerten Toxin-Antitoxingemisch. Bleibt gesund.

Auch dieses Mal war durch die Säure aus dem Präzipitate so viel Gift in Freiheit gesetzt worden, um den Tod des Kaninchens innerhalb 48 Std. herbeizuführen. Das mit Säure versetzte Gemisch war unschädlich.

Versuch am 23. Juni 1919.

Folgende Proben wurden aufgestellt:

Von dem 600-fachen Diphtherieserum 1 I.-E. + 1 L+-Dosis 2mal; ferner 1 I.-E. + 0,33 ccm Bouillon statt des Diphtheriegiftes. Alle 3 Proben blieben 6 Std. bei Zimmertemperatur. Dann wurde ein Toxin-Antitoxingemisch wie gewöhnlich mit Präzipitin versetzt, zentrifugiert, dann angesäuert, das zweite Gemisch ohne weiteren Zusatz angesäuert. Der Säuregehalt entsprach wieder einer n/100 HCl. Die Probe, welche Bouillon statt Toxin enthielt, wurde ebenfalls mit Präzipitin versetzt und genau so behandelt wie die Toxinprobe. Nach 18-stündiger Einwirkung der Säure wurden die beiden Präzipitinaufschwemmungen und die Probe mit Säure allein Kaninchen intravenös injiziert.

Kaninchen No. 1739 (2100 g), injiziert mit dem angesäuerten Toxin-Antitoxingemisch am 24. Juni. Bleibt gesund.

Kaninchen No. 1085 (2000 g), injiziert mit dem angesäuerten Präzipitate der Bouillonprobe. Bleibt gesund.

Kaninchen No. 832 (2000 g), injiziert am 24. Juni mit der angesäuerten Präzipitataufschwemmung der Toxin-Antitoxinmischung. 26. Juni morgens tot. Sektionsbefund: Blutungen im Netze. Nebennieren stark gerötet. Nieren hyperämisch.

Auch in dem dritten derartigen Versuche hatte die saure Präzipitataufschwemmung den Tod des injizierten Kaninchens herbeigeführt, und zwar mit einem für Diphtherietoxin typischen Befund. Die Toxin-Antitoxinmischung allein war auch nach 6-stünd. Bindungszeit durch die Säure nicht mehr toxisch geworden. Ebenso war die mit Säure behandelte Präzipitataufschwemmung aus der Probe, welche statt Toxin Bouillon enthielt, ungiftig.

Die erwähnten Versuche zeigen übereinstimmend, daß aus dem spezifischen Präzipitate, welches in einer neutralen Diphtherietoxin-Antitoxinmischung erzeugt wurde, durch

Säure beträchtliche Mengen Gift abgespalten werden, da der Tod des betreffenden Kaninchens in ungefähr 40 Std. erfolgte. Bei zweien dieser Kaninchen waren die Nebennieren in der für das Diphtheriegift charakteristischen Weise verändert; eines davon hatte auch noch Blutungen im Netze, das dritte wies keine charakteristischen Veränderungen auf, doch ist der Sektionsbefund bei Kaninchen, die an Diphtherievergiftung eingegangen sind, öfters negativ (vgl. die Versuche von Morgenroth und Willanen (7). Für den Tod des Kaninchens, der in allen Versuchen so regelmäßig innerhalb einer bestimmten Zeit eintrat, eine andere Ursache anzunehmen, liegt kein Grund vor. Anaphylaxie kann nicht in Betracht kommen, da die Kaninchen die ersten 24 Std. nach der Injektion ganz normal waren, und der Versuch mit Bouillon statt Diphtheriegift überdies zeigt, daß die saure Aufschwemmung des Präzipitates ohne Diphtherietoxin unschädlich ist. Zur Hervorrufung von Anaphylaxie sind die einzelnen Mengen von Pferdeserum, die höchstens 0,0017 ccm betrugen, überdies zu gering.

Bemerkenswert ist, daß in dem neutralen Gemische des von mir benutzten Serums mit Toxin durch Säurekonzentrationen von n/100., die von Morgenroth und Willanen (7) in ihren Versuchen mit positivem Erfolge verwendet wurden, keine Spaltung eintrat. Nicht nur unter den gleichen Versuchsbedingungen, sondern sogar noch nach bedeutend längerer Bindungszeit konnten die beiden Autoren Toxin abspalten. Die Differenz der Versuchsresultate ist, zumal da wir jeder nur mit einem bestimmten Antitoxin gearbeitet haben, offenbar auf eine verschiedene Avidität der benutzten Immunsera zurückzuführen. Morgenroth und Willanen dürften ein Antitoxin von geringer Avidität gehabt haben. Dafür spricht außer der Verwendung eines wahrscheinlich verdünnten Standardserums vor allem der Umstand, daß eine mindestens 24-stündige Bindungszeit nötig war, um das Gemisch für Kaninchen zu entgiften, während in meinen Versuchen die Mischung selbst nach nur 6-stündiger Bindungszeit nicht einmal durch Säurezusatz toxisch wurde. Nach kürzerer Bindungszeit oder höhere Säurekonzentrationen wäre vielleicht auch ein solches Gemisch zu spalten gewesen. Wegen Ersparnis von Tieren habe ich aber auf solche Versuche verzichtet, zumal sie für meine Zwecke nicht mehr erforderlich waren. Denn durch den in diesen Versuchen erhobenen Befund, daß aus dem spezifischen Präzipitate einer neutralen Diphtherietoxin-Antitoxinmischung durch Säure Toxin abgespalten wird, ist auch bewiesen, daß im Präzipitate Antitoxin enthalten ist, da das Toxin allein vom Präzipitin nicht gefällt werden konnte[1]). Also auch in einer Toxin-Antitoxinverbindung, die bereits soweit verfestigt ist, — was beim Diphtheriegifte nach $^1/_2$-stündiger Bindungszeit zutrifft — daß das Präzipitin keine nachweisbaren Mengen von Toxin mehr frei macht, vermag sich das erstere mit dem vom Toxin besetzten Antitoxin zu verbinden. Trotz des Eintrittes des Präzipitins in das Antitoxinmolekül wird aber das Toxin, wenn erst einmal mit dem Antitoxin eine feste Verbindung erfolgt ist, nicht mehr frei. Ist aber die Bindung zwischen Toxin und Antitoxin wie beim Tetanusgift nach einer halben Stunde noch eine lockere, die den Charakter einer Adsorptionsverbindung hat [vgl. Pick und Schwarz (8)], so wird infolge der Antitoxinabscheidung durch Präzipitin noch ein Teil des Toxins nachweisbar. Jetzt kann also unter den 2 bei den Versuchen mit Tetanustoxin erörterten Möglichkeiten die Entscheidung getroffen werden, die dahin lautet, daß auch das mit seinem Antigen fest verbundene Antitoxin für das Präzipitin noch angreifbar ist, allerdings ohne daß dabei eine im Tierversuche erkennbare Menge von Toxin frei wird.

---

[1]) Die Möglichkeit, daß das Toxin von den durch das Präzipitin gebildeten Flocken in unspezifischer Weise adsorbiert werden und somit ohne Antitoxin im Niederschlage enthalten sein könnte, braucht wohl nicht in Erwägung gezogen zu werden.

Und doch lassen die angeführten Versuche über die Säurewirkung den Schluß ziehen, daß auch in einer solchen gefestigten Toxin-Antitoxinverbindung das Präzipitin nicht ohne Einfluß auf das Antitoxin ist. Denn wir haben gesehen, daß die Säure, welche aus einer solchen Mischung keine merklichen Mengen Toxin abzuspalten vermag, bei der Einwirkung auf das Präzipitat aus einer gleichen Mischung, noch beträchtliche Giftmengen in Freiheit setzt. Dieses Verhalten läßt sich nur so erklären, daß das Antitoxin durch den Eintritt des Präzipitins in seiner Wirksamkeit so weit geschwächt ist, daß nun seine Säurekonzentration, welche für das verwendete Antitoxin keine Spaltung seiner Verbindung mit Toxin bewirkt, auf das Präzipitat noch eine solche Wirkung ausüben kann. Für diese Auffassung spricht auch ein früher ausgeführter Versuch mit Tetanustoxin. In diesem Versuche war durch die Einwirkung des Präzipitins auf das neutrale Gemisch nach $^1/_2$-stündiger Bindungszeit die durch Zentrifugieren gewonnene klare Flüssigkeit giftig geworden; aber auch aus dem Niederschlag wurde im Tierkörper unter dem Einflusse des Präzipitins auf das Antitoxin noch Gift freigemacht. Ist nun auch das Präzipitin allein nicht in allen Fällen imstande, diesen Erfolg herbeizuführen, so wird die Toxinabspaltung auch in solchen Fällen erreicht durch den Einfluß der Säure auf das Präzipitat, weil dann eben 2 gleichsinnig auf das Antitoxin wirkende Komponenten zur Geltung kommen.

Hämotoxin des Vibrio Kadi-Kjö.

Filtrate von 10-tägigen Bouillonkulturen dieses Vibrio besitzen ein starkes Lösungsvermögen für rote Blutkörperchen des Kaninchens. Von dem in diesen Versuchen verwendeten Filtrate genügten 0,005 ccm, um 1 ccm 5-proz. Kaninchenblutaufschwemmung in 30—40 Min. bei 36° vollständig zu lösen. Zur Neutralisation dieses Toxins standen 2 Pferdeimmunsera Norbert und Rekrut zur Verfügung. Vom Serum Norbert genügten 0,0004 ccm, vom Serum Rekrut 0,0001 ccm, um 0,005 ccm des Hämotoxins nach $^1/_2$-stündiger Bindung zu neutralisieren. Der folgende Versuch gibt über die Wirkung verschiedener Pferdepräzipitine auf die beiden antitoxischen Sera Aufschluß.

Versuch am 22. Febr. 1919.

Zu je 1,5 ccm einer 1000-fachen Verdünnung der beiden Sera wurden je 0,3 ccm dreier verschiedener spezifischer Präzipitine und als Kontrolle dieselben Mengen eines Kaninchenserums, das mit Flexner-Bakterien gespritzt worden war, zugesetzt. Die Proben blieben 2 Std. bei Zimmertemperatur und über Nacht im Kühlschrank. Die durch die Präzipitine gebildeten Niederschläge wurden abzentrifugiert, die Abgüsse und die Kontrollprobe auf ihren Antitoxingehalt ausgewertet.

Die stärksten Antitoxinverluste hatte Präzipitin No. 39 im Serum Rekrut bewirkt, indem die 4-fache Menge der in der Kontrollprobe vollständig neutralisierenden Dosis fast keine Hemmung der Lyse bewirkte. Daher wurde diese Kombination zu den folgenden Versuchen verwendet.

Serum Norbert	+	Präzipitin No. 268	0,4	ccm	+	0,005 cm Toxin	partiell
dgl.	+	dgl.	0,2	„	+	dgl.	fast komplett
„	+	„	0,1	„	+	„	komplett
„	+	„	0,4	„	+	„	fast komplett
„	+	„	0,2	„	+	„	dgl.
„	+	„	0,1	„	+	„	komplett
„	+	„ 39	0,4	„	+	„	komplett
„	+	„ 39	0,2	„	+	„	komplett
„	+	„ 39	0,1	„	+	„	„
„	+	Flexner-Immunserum	0,4	„	+	„	ungelöst
„	+	„	0,2	„	+	„	partiell
„	+	„	0,1	„	+	„	stark gelöst
Serum Rekrut	+	Präzipitin No. 268	0,4	„	+	„	ungelöst
dgl.	+	dgl.	0,2	„	+	„	„
„	+	„	0,1	„	+	„	partiell
„	+	„	0,4	„	+	„	ungelöst
„	+	„	0,2	„	+	„	„
„	+	„	0,1	„	+	„	Spur gelöst
„	+	„ 39	0,4	„	+	„	fast komplett
„	+	„ 39	0,2	„	+	„	komplett
„	+	„ 39	0,1	„	+	„	„
„	+	Flexner-Immunserum	0,2	„	+	„	ungelöst
„	+	„	0,1	„	+	„	„
„	+	„	0,05	„	+	„	stark gelöst

Versuch am 25. Febr. 1919.

Es wurden aufgestellt je 1 ccm einer 1000-fachen Verdünnung von Serum Rekrut + 0,5 ccm einer 10-fachen Verdünnung Hämolysin. Eine solche Mischung enthielt nach der vorher angeführten Auswertung 10 lösende und 10 neutralisierende Dosen: nach $^1/_2$ Std. Bindungszeit wurde ein solches Gemisch zur Prüfung der Neutralität mit 1 ccm 5-proz. Kaninchenblutaufschwemmung versetzt. Zwei andere Proben wurden nach $^1/_2$-stündiger Bindungszeit je 0,2 ccm Präzipitin No. 39 oder Flexner-Kaninchenimmunserum hinzugefügt, schließlich bei 2 weiteren Proben der Zusatz der Kaninchensera erst nach 2-stünd. Bindungszeit vorgenommen. Nach 7-stündiger Einwirkung des Präzipitins wurden die gebildeten Niederschläge abzentrifugiert, die Abgüsse und die Kontrollproben mit Flexner-Kaninchenserum mit je 1 ccm Kaninchenblutaufschwemmung versetzt und 1 Std. im Brutschrank belassen. In keiner der Proben war nach dieser Zeit auch nur eine Spur von Lösung des Blutes erfolgt.

In einem anderen Versuche wurden zu gleichen Mischungen von Hämolysin und Antitoxin, wie sie in dem eben erwähnten Versuche verwendet wurden, nach $^1/_2$-stünd. Bindung je 0,4 ccm Präzipitin No. 39 oder Flexner-Serum hinzugefügt. Auch in solchen Versuchen mit größeren Präzipitinmengen war keine Spur von Hämolysin in den Abgüssen nachweisbar.

Endlich sei noch ein Versuch erwähnt, in dem je 0,4 ccm Präzipitin und Flexner-Serum auf ein nicht ganz neutralisiertes Gemisch von Hämotoxin und Antitoxin, das also auf 0,001 ccm Rekrutserum statt 0,05 ccm 0,08 ccm Bouillonfiltrat des V. Kadi-Kjö enthielt, und dementsprechend nach $^1/_2$-stündiger Bindungszeit mit Blut versetzt noch etwas Lyse bewirkte. Auch bei dieser Versuchsanordnung war die Lösung in den beiden Proben mit Kaninchenserum nicht nur nicht stärker als in der Probe ohne Zusatz, sondern sogar etwas schwächer, was auf eine leichte Hemmung des Hämolysins durch die Kaninchensera zurückzuführen ist. Solche unspezifische Hemmungen der Hämolyse, die durch Immunisierung mit einem anderen Antigen entstehen, wurden öfters beobachtet (vgl. Kraus und Clairmont).

Aus den angeführten Versuchen geht also hervor, daß auch bei diesem Toxin unter verschiedenen und sogar unter möglichst günstig gewählten Bedingungen eine Sprengung der Toxin-Antitoxinverbindung durch Präzipitin nicht möglich ist. Dieses Verhalten dürfte ebenso wie für das Diphtherietoxin auf eine im Vergleiche zum Tetanustoxin stärkere Avidität des Hämotoxins zu seinem Antitoxin zurückzuführen sein, der zufolge die Verbindung nach $^1/_2$ Std. schon einer Trennung durch Präzipitin widersteht. Mit Rücksicht auf diese Auffassung wurde versucht, ob es umgekehrt möglich ist, aus der Verbindung des Präzipitins mit dem antitoxinhaltigem Präzipitinogen bei Zusatz von Hämolysin einen Teil des Antihämolysins wiederzugewinnen.

Versuch am 17. April 1919.

Die Auswertung des Serums Rekrut mit einem frischen Hämotoxin, von dem 0,005 ccm 1 ccm 3-proz. Kaninchenblut innerhalb 30 Min. komplett lösten, hatte ergeben, daß 0,0002 ccm nötig waren, um obige Toxinmenge vollständig zu neutralisieren. Von einer 1000-fachen Verdünnung dieses Serums wurden 2 ccm mit 0,4 ccm Präzipitin No. 39 versetzt, nach 1 Std. der Niederschlag abzentrifugiert und in 2 ccm Kochsalzlösung aufgenommen. Von dieser Aufschwemmung des Niederschlages und vom Abgusse wurden die folgenden Mengen auf Hemmung der Hämolyse geprüft, indem sie mit je 0,005 ccm Hämotoxin vermischt, $^1/_2$ Std. im Brutschranke gehalten und dann mit je 1 ccm Kaninchenblutaufschwemmung versetzt wurden.

Menge des Hämotoxins	Menge und Art des Zusatzes	Resultat nach	
		$^1/_2$ Stunde	1 Stunde
0,005 ccm	1 ccm Abguß	fast komplett	komplett
dgl.	0,5 „ „	komplett	„
„	0,3 „ „	„	„
„	1 ccm Niederschlag	Spur gelöst	partiell
„	0,5 „ „	partiell	stark
„	0,2 „ „	„	fast komplett
„	1 ccm Kochsalzlös.	komplett	komplett

Aus dem Versuche ist zu entnehmen, daß von den in 2 ccm der 1000-fachen Serumverdünnung enthaltenen 10 neutralisierenden Dosen durch das Präzipitin ungefähr 9 verloren gegangen sind, da 1 ccm des Abgusses und mehr spurenweise hemmt, also schätzungsweise im ganzen Abguß eine neutralisierende Dosis enthalten sein dürfte. Von der Aufschwemmung des Niederschlages bewirken 1,0 und 0,5 ccm noch deutliche Hemmung der Hämolyse, so daß von dem im Sediment befindlichen Antitoxin selbst nach 1-stündiger Einwirkung des Präzipitins noch ein geringer Bruchteil durch das Hämotoxin an sich gerissen werden kann. Der positive Ausfall dieses Versuches mit dem Vibriotoxin und der negative eines ähnlichen, früher erwähnten mit Tetanustoxin, dürfte also auch für die verschiedene Avidität der beiden Gifte zu ihren Antitoxinen sprechen.

Mit dem Hämotoxin des Vibrio Kadi-Kjö konnten Versuche, neutrale Mischungen dieses Toxins mit seinem Antitoxin durch Säure zu spalten, wegen experimenteller Schwierigkeiten nicht durchgeführt werden. Es hat sich nämlich gezeigt, daß ein Säuregehalt von n/250 HCl bereits schwache Lösuug des Kaninchenblutes bewirkte und nur ein Gehalt von n/350 ohne Schädigung vom Blute vertragen wurde. Mit Rücksicht auf diese hohe Empfindlichkeit des Blutes gegen Säure konnten nur so geringe Säuremengen zur Toxin-Antitoxinverbindung zugesetzt werden, die keine Spaltung bewirkten. Denn nicht bei allen Toxinen gelingt, wie z. B. aus Versuchen Morgenroth und Ascher (10) für Abrin hervorgeht, die Sprengung schon bei so niederen Säurekonzentrationen wie beim Diphtheriegift. Dazu käme noch eine eventuelle Zerstörung des Hämotoxins durch stärkere Säurekonzentrationen.

Zusammenfassung.

Die Versuche haben gezeigt, daß das Präzipitin auch noch in neutralen Toxin-Antitoxinmischungen auf letzteres wirkt. Das Schicksal des gebundenen Toxins ist nach dieser Einwirkung je nach der Art des Antigens und der Bindungszeit verschieden.

Das mit schwacher Avidität zu seinem Antitoxin ausgestattete Tetanusgift wird nach 1/2-stündiger Bindung durch Einwirkung des Präzipitins noch zum Teile frei gemacht, nicht mehr aber nach mehrstündiger Bindungszeit, nach welcher die Verbindung mit dem Antitoxin schon verfestigt ist. Ein solcher Grad der festen Bindung ist für das Diphtheriegift und das Hämotoxin des Vibrio Kadi-Kjö schon nach 1/2 Std. eingetreten, so daß das Präzipitin zu dieser Zeit nicht mehr imstande ist, wirksame Mengen von Gift abzuspalten. Nichtsdestoweniger beeinträchtigt das Präzipitin auch unter solchen Umständen noch die Antitoxinfunktion, wie sich unter anderem aus der Abspaltung von Gift durch Säure aus dem Präzipitate, welches aus einer neutralen Diphtherietoxin-Antitoxinmischung gewonnen ist, zeigt, da durch Säure allein das gleiche Gemisch nicht trennbar ist.

Fällung mit Ammonsulfat bei 50-proz. Sättigung vermag aus einer Tetanus-Antitoxinmischung mit auch nur 1/2-stündiger Bindungszeit kein Toxin freizumachen.

Durch Behandlung des Tetanusantitoxins mit Formaldehyd werden die Antikörperverluste durch Präzipitin nicht verhindert.

Literatur.

1) Wien. klin. Wochenschr. 1904.
2) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 39. 1905. H. 1.
3) Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 6. 1910. H. 4.
4) Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 10.
5) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 63. 1912.
6) Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. Bd. 1.
7) Virchows Arch. Bd. 190.
8) Biochem. Zeitschr. Bd. 17. 1909.
9) Wien. klin. Wochenschr. 1900.
10) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 59.

Nachdruck verboten.

Beiträge zur Toxinentgiftung.

[Aus dem staatlichen serotherapeutischen Institute in Wien (Vorstand: Hofrat Prof. Paltauf).]

Von Dr. **O. Löwy.**

Wir wollen hier über eine Reihe von Versuchen berichten, die den Zweck verfolgten, nachzusehen, welche Organe, Fermente und chemische Substanzen das Vermögen besitzen, Toxine zu entgiften. Weiter sollte geprüft werden, ob die Entgiftung auf Zerstörung (Abbau) oder auf Adsorption beruhe, und zuletzt, ob mit den „entgifteten" Toxinen durch Tiereinverleibung Antikörperproduktion auszulösen war.

Der 1. Teil dieser Versuche konnte zum Teil durchgeführt werden, und, da immerhin gewisse Ergebnisse zu verzeichnen waren, so entschlossen wir uns (da es die Verhältnisse jetzt nicht gestatten, alle geplanten Versuche durchzuführen), die Ergebnisse als Mitteilung erscheinen zu lassen, und wollen uns daher auch nur mit einigen Literaturangaben begnügen.

El Tortoxin.

Wir benutzten zu unseren Versuchen das gut bekannte El Tor V-Toxin. Die 14-tägige Bouillonkultur wurde $^1/_2$-proz. karbolisiert, durch Papierfilter einige Male filtriert und das Filtrat im Eisschrank aufbewahrt. Bei intravenöser Injektion von abgestuften Toxinmengen erwies sich die Dosis von 0,2 für Meerschweinchen von ca. 250 g als konstant nach einigen Stunden tödlich.

Es wurde zuerst Pepsin in schwach saurer Lösung, Trypsin und Ptyalin in schwach alkalischer 4 Std. auf die einfach letale Dosis Toxin (0,2) bei 37° einwirken gelassen, dann intravenös injiziert, nachdem das Pepsintoxin vorher schwach alkalisiert worden war. Alle Tiere überlebten. Das Kontrolltier starb nach 5 Std. (Als Beweis, daß das Toxin in 4 Std. bei 37° nicht zerstört wurde.)

Das El Tor V-Toxin wird also durch Pepsin, Ptyalin, sowie Trypsin zerstört.

Wir haben dann die einfach letale El Tor-Toxindosis mit je 1 ccm des auf $^1/_{100}$ verdünnten, käuflichen 40-proz. Formalin versetzt. Das Gemenge Toxin + Formalin gleich 5, 10 und 15 Min. nach der Mischung intravenös injiziert. Nach dieser Zeit zerstörte das zugesetzte Formalin das Toxin nicht, denn alle Versuchstiere starben nach 3 Std. Ein Kontrolltier, das nur die Formalinlösung erhielt, überlebte als Beweis, daß diese Formalinmengen nicht tödlich sind.

Versetzt man die doppelte Toxindosis mit einer dichten Kohle-, Kaolin- und Bolus alba-Emulsion und, hält es 6 Std. bei 37°, so zeigt sich, daß das Filtrat, das die 2mal letale Dosis enthält, für Meerschweinchen atoxisch wurde.

Bei einer anderen Versuchsanordnung, wo die $2^1/_2$-fache letale Dosis injiziert wird, nachdem Kohle, Kaolin und Bolus alba nur 1 Std. auf das Toxin eingewirkt hatte, überlebt das Kaolin- und Kohletier, während das Bolus alba-Tier nach 2 Std. gleichzeitig mit dem Kontrolltier stirbt.

Eine weitere Reihe von Versuchen ging dahin, festzustellen, ob Organe imstande sind, die El Tor-Toxine zu entgiften.

Meerschweinchenorgane wurden — normalen Tieren frisch entnommen — mit physiol. Kochsalzlösung zu einer feinen Emulsion verrieben, mit Toxin gemengt, 3 Std. bei 37° C gehalten. Durch Fil-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

tration (Papierfilter) und nachheriges scharfes Zentrifugieren entfernten wir die groben Organpartikelchen. Es wurde dann die 2-fach letale Dosis des Toxins injiziert. Leber-, Milz-, Niere-, Gehirnemulsion entgifteten vollkommen das Toxin.

Wenn man dieselben Organemulsionen 10 Min. kocht — wodurch doch gewiß alle Lebensfunktionen der außerhalb des Körpers überlebenden Zellen zerstört wurden — so vermag auch die gekochte Organemulsion das Toxin zu entgiften.

Diese Toxinentgiftung kann daher nur als Adsorption gedeutet werden und nicht auf fermentativem Abbau durch lebende Zellen beruhen, was ebenfalls auch aus folgendem Versuch zu schließen wäre.

Wenn man Gehirn-, Milz-, Nieren- und Leberemulsion vor dem Mengen mit dem Toxin filtriert und auf diese Weise die „Fermente der Zellen“ ausgelaugt hat, vermögen die Säfte der Zellen das Toxin nicht zu entgiften, denn die Tiere, denen man ein Gemenge von Leber-, Milz-, Niere- und Gehirnemulsionfiltrat mit nachher zugesetztem Toxin (3 Std. bei 37°) injiziert, sterben gleichzeitig mit der Kontrolle. Das gleiche Resultat erzielten wir mit Kaninchenorganen, und zwar wurden Milz, Leber, Niere und Gehirn geprüft.

Zuletzt wollen wir noch erwähnen, daß Hypermangan, selbst in Verdünnung 1 : 5000, imstande ist, die einfache letale Toxindosis zu zerstören (siehe auch Wien. klin. Wochenschr. 1914. No. 16).

Von stark oxydierenden Substanzen versuchten wir Wasserstoffsuperoxyd auf das El Tor-Toxin einwirken zu lassen. Während einmal nach ganz kurzem Einwirken von Perhydrol Merck 1 : 25 auf die einfach letale Toxindosis dieses zerstört wurde, starb ein 2. Tier, trotz einer Einwirkungsdauer von 8 Min. auf das Toxin, gleichzeitig mit der Kontrolle.

Dysenterietoxin.

Wir stellten uns ein Dysenterietoxin Shiga-Kruse auf Bouillon her, deren letale Dosis pro Kilogramm Kaninchen bei intravenöser Applikation 0,03 ccm betrug. (Literatur siehe Doerr, Das Dysenterietoxin in Krause-Levaditi, Bd. 1, und Das Dysenterietoxin. Jena 1907.)

Trypsin und Ptyalin in schwach alkalischer Reaktion, Pepsin in saurer der 1- und 2-fachen letalen Toxindosis zugesetzt und 4 bzw. 7 Std. bei 37° einwirken gelassen, übt keinen Einfluß auf das Dysenterietoxin aus. (Das Pepsintoxin wurde vor der Injektion schwach alkalisiert.)

(Ein Pepsintier mit der 2-fach letalen Dosis überlebt die Injektion, doch glauben wir (da es mit der einfach letalen Dosis stirbt!) dies den bekannten Unregelmäßigkeiten bei der Dysenterie zuschreiben zu müssen.)

Ebenso konnte Papayotin bei 7-stündiger Einwirkung bei 37° das Dysenterietoxin nicht zerstören.

Versetzt man die 2-fach letale Dosis Toxin mit Formalin 1 : 25 und injiziert nach 10 Min., so stirbt das Kaninchen an typischem Dysenterietod. Das gleiche ist der Fall, wenn man das Toxin mit $^1/_{1000}$ Hypermangan versetzt.

Das stark oxydierende Perhydrol (1 : 25) vermag jedoch in dieser Zeit die 2-fach letale Toxindosis zu zerstören.

Die Beziehungen des Dysenterietoxins zu den Organen, namentlich Darm, wurden vor allem von Doerr geklärt. In Uebereinstimmung mit seinen Versuchen können wir folgendes berichten:

Kaninchenorgane wurden in physiolog. Kochsalzlösung zerkleinert und auf das Dysenterietoxin einwirken gelassen. Es zeigte sich,

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

daß bei 2-stündiger Einwirkung bei 37° das Toxin seine Giftigkeit nicht verloren hat. Von Organen wurde dieser Versuch mit Gehirn, Leber, Pankreas, Milz und Niere angestellt.

Dasselbe Ergebnis lieferte der gleiche Versuch mit Meerschweinchenorganen, und zwar mit Gehirn, Leber, Milz und Niere.

Verwendet man jedoch Darmmukosa, die sorgfältigst gereinigt und in physiolog. Kochsalzlösung verrieben, zum Toxin zugesetzt war, so zeigt sich, daß die Dünndarmschleimhaut stets imstande war, auch die vielfach tödliche Toxinmenge zu zerstören, wogegen diese Fähigkeit der Magen- und Dickdarm-, sowie Mukosa des Processus vermiformis abging.

Wird die Dünndarmmukosa $^1/_4$ Std. auf 60° erhitzt, so verliert sie ihre entgiftenden Eigenschaften noch nicht. Kocht man jedoch die Dünndarmmukosa 10 Min. lang, so verliert sie vollkommen die entgiftende Eigenschaft als Beweis, daß die Entgiftung nicht als eine einfache Adsorption zu deuten ist.

Diphtherietoxin (siehe Madsen, Kraus-Levaditi, Bd. 1).

Unser auf Rinderbouillon gewonnenes Toxin tötete bei subkutaner Injektion Meerschweinchen von ca. 250 g in Mengen von 0,01 am 4. Tage.

Von Fermenten wurden wieder Pepsin, Trypsin und Ptyalin untersucht. Bei 4-stündiger Einwirkung bei 37° konnten Pepsin und Ptyalin die einfach tödliche Dosis vollkommen entgiften. Das Trypsintier überlebte wohl, doch kam es an der Injektionsstelle zu einem kleinen, harten Infiltrat. Eine deutliche Giftabnahme war also zu vermerken, da das Kontrolltier am 3. Tage einging.

Das Perhydrol Merck (32-proz.) in $^1/_{25}$ Verdünnung konnte bei einer Einwirkungszeit von 1, 5, 10, 15, 20 und 25 Min. auf die einfach tödliche Toxindosis dieses nicht zerstören. (Bei längerer Einwirkung wird es jedoch unwirksam, siehe Siebert, Zeitschr. f. physiol. Chem. 1901, und Loewenstein, Wien. klin. Wochenschr. 1903).

Hypermangan in $^1/_{1000}$ Verdünnung, mit der einfach letalen Dosis gemengt, vermag diese zu entgiften, und zwar nicht nur nach 10 Min. langer Einwirkung, sondern auch nach einer Einwirkungszeit von 1 Min.

Versetzt man Diphtherietoxin mit Formalin, und zwar mit 0,4 Proz., so wird dieses nach einer Einwirkungszeit von 15 Min. nicht entgiftet.

Diphtherietoxin mit Adrenalin 1:2500 versetzt bei einer Einwirkungszeit von 20 Std. im Kühlschrank, tötete Meerschweinchen gleich dem Kontrolltier. (Bei anderer Versuchsanordnung erhielt Marie, Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 17, und Abramow und Mischenrukow, Ibid. Bd. 20 jedoch Entgiftung.)

Bei einer Einwirkungszeit von 2 Std. bei 37° konnten wir auch keine Entgiftung von Toxin durch Kohle, Kaolin und Cholestearin nachweisen. (Siehe J. Zunz, Arch. intern. de Physiol. T. 7; ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 46.)

Untersucht wurden weiter Organe von Meerschweinchen, und es zeigte sich, daß weder Gehirn, Leber, Milz, Niere noch Herz, Skelettmuskel, Knochenmark, Nebenniere bei einer Einwirkungszeit von 3 Std. bei 37° die einfach letale Toxindosis zu entgiften vermögen. Meerschweinchenherz und -Nebenniere, zu denen doch das Toxin scheinbar eine besondere Affinität besitzt, konnten das Toxin auch bei einer Einwirkungszeit von 4 und 16 Std. bei 37° nicht entgiften. Die injizierten Toxinmengen entsprachen den einfach letalen Dosen.

Ebensowenig wie Meerschweinchenorgane konnten Gehirn, Leber, Herz, Milz und Niere von Kaninchen die einfach letale Meerschweinchendosis entgiften.

Tetanustoxin (siehe Eisler u. Přibram, in Kraus-Levaditis Handbuch, Bd. 1).

Das Toxin war aus Tetanus-Bouillonkulturen unter anaëroben Verhältnissen gewonnen, mit Ammonsulfat gefällt. In Mengen von 0,00002 g war dieses Ammonsulfattoxin bei subkutaner Injektion für Meerschweinchen am 3.—4. Tag tödlich.

Versetzten wir die 2-fach letale Dosis mit Pepsin (in schwach saurer Reaktion), Trypsin, Ptyalin und Papayotin (bei alkalischer Reaktion) und ließen 6 Std. bei 37° einwirken, so überlebten das Trypsin- und Ptyalintier, wogegen Pepsin und Papayotin ohne Wirkung blieben. (Durch stärkere Säuren wird das Tetanustoxin zerstört!).

Adrenalin konnte in Verdünnung 1 : 2500 bei einer Einwirkungszeit von 20 Std. im Kühlschrank die 2-fach letale Dosis Toxin entgiften (siehe Marie, l. c.).

Fassen wir die Ergebnisse zusammen, so zeigt sich, daß **bei oben angeführten Versuchsanordnungen** die Wirkung des **El Tor V-Toxin** aufgehoben wird durch Einwirkung von Pepsin, Trypsin und Ptyalin; ebenso durch Kohle, Kaolin und Bolus alba, weiter durch Hypermangan in Verdünnung 1 : 5000, durch Meerschweinchen-Leber, -Milz, -Niere, -Gehirn, selbst dann, wenn diese vorher auch gekocht wurden, ebenso durch Kaninchen-Milz, -Leber, -Niere und -Gehirn.

Nicht aufgehoben wird die Toxinwirkung durch 0,4-proz. Formalin bei einer Einwirkungsdauer von 15 Min.

Das **Dysenterietoxin** verliert seine Wirksamkeit durch Perhydrol, Kaninchendünndarmmukosa, selbst wenn diese 15 Min. auf 60° erhitzt wurde.

Bleibt wirksam trotz Einwirkung von Trypsin, Pepsin, Ptyalin und Papayotin, dann Formalin durch 10 Min., Hypermangan 1 : 1000. Kaninchen-Gehirn, -Leber, -Pankreas, -Milz, -Niere, dann Mukosa des Processus vermiformis, Magens sowie Dickdarms, sowie gekochter Dünndarmmukosa.

Diphtherietoxin wird unwirksam durch Pepsin, Ptyalin (Trypsin stark abgeschwächt) und Hypermangan.

Bleibt wirksam trotz Einwirken von Adrenalin (1 : 2500), Perhydrol, Formalin, Kohle, Kaolin, Cholestearin, Meerschweinchen-Gehirn, -Leber, -Milz, -Niere, -Herz und -Skelettmuskel, -Knochenmark, -Nebenniere, ebenso wie beim Einwirken von Kaninchen-Gehirn, -Leber, -Herz, -Milz und Niere.

Tetanustoxin wird entgiftet durch Trypsin, Ptyalin und Adrenalin und bleibt wirksam trotz Einwirkung von Papayotin und Pepsin.

Nachdruck verboten.

Ueber die Beeinflussung der Wa-R. durch das Komplement infizierter Tiere, nebst Bemerkungen über den Co.-Gehalt des Meerschweinchenserums.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Leipzig (Direktor
Geh. Rat W. Kruse).]

Von Dr. **K. Hintze,** Privatdozent.

Anfang dieses Jahres fiel es auf, daß bei den sogenannten hämolytischen Vorversuchen für die Untersuchung des Blutes nach Wassermann das Hammelblut auffallend schnell und hoch gelöst wurde, daß dagegen im Hauptversuch ganz auffallend viel Hemmungen der Hämolyse verschiedenen Grades auftraten, die stark von dem bisherigen allgemeinen Durchschnitt an positiven Resultaten abwichen. Auch bei den Kontrollen, d. h. den Seren ohne Extrakt, wurden zahlreiche Hemmungen geringen Grades beobachtet, von denen sich die meisten allerdings nach mehreren Stunden Stehens bei Zimmertemperatur lösten. Diese Erscheinungen wurden mehrere Wochen hintereinander beobachtet, ohne daß wir uns zunächst eine Erklärung dafür zu geben vermochten.

Da die benutzten Reagenzien, Extrakt und Ambozeptor dieselben waren und auch das Hb stets aus derselben Quelle bezogen wurde, richtete sich der Verdacht auf das Co. als Ursache. Eine genauere Untersuchung ergab in der Tat, daß die allem Anschein nach vollkommen gesunden Meerschweinchen zum großen Teil mit beginnender Pseudotuberkulose behaftet waren.

In der Milz und der Leber fanden sich kleine, grau-weiße Knötchen verschiedener Größe; meistens waren auch die Mesenterialdrüsen mehr oder weniger vergrößert. Die übrigen Organe waren frei. Aus den Knötchen wurden kleine, gramnegative, unbewegliche Stäbchen gezüchtet, welche weder Milchzucker (Drigalski-Platte), noch auch Traubenzucker unter Gasbildung zerlegten, kein Indol bildeten und die Gelatine nicht verflüssigten. Derartige Stäbchen sind ja wiederholt als Ursache der Pseudotuberkulose der Meerschweinchen beschrieben worden[1]).

Selbstverständlich wurden von jetzt an alle Meerschweinchen nach dem Entbluten, auch wenn sie dem Anschein nach vollkommen gesund waren, einer genauen Sektion unterworfen, um etwaige, trotzdem vorhandene, krankhafte Veränderungen festzustellen. Zugleich wurden Parallelversuche vorgenommen mit dem Serum nachweislich gesunder Tiere und solcher, die mit Pseudotuberkulose behaftet waren, wie die Autopsie zeigte. Der unter genau den gleichen Bedingungen vorgenommene Wa-Versuch ergab wieder bei dem Co. der kranken Tiere eine erheblich größere Anzahl von Hemmungen verschiedenen Grades, als bei dem der gesunden Tiere.

Bei den Untersuchungen am 31. Jan. 1919 ergab sich z. B. folgendes Resultat: von 34 Seren, die mit dem Co. eines gesunden Meerschweinchens angesetzt wurden, waren 8 stark und 3 schwach positiv = 11 zusammen; von den gleichen menschlichen Seren reagierten mit dem Serum des kranken Tieres 18 stark und 15 schwach positiv = zusammen 33!; nur ein einziges Serum zeigte eine negative Reaktion. Außerdem waren in dem letzten Versuch 21 Serumkontrollen gehemmt, während sie in dem Versuch mit dem Co. des gesunden Tieres klar gelöst waren. — Der hämolytische Vorversuch wurde genau nach der wohl allgemein üblichen Methode angestellt und im Hauptversuch dann der 3—4-fache Ambozeptor der gefundenen Verdünnung genommen.

---

[1] Zusammenfassende Darstellung bei Poppe, K., Pseudotuberkulose. (Kolle-Wassermann, Handb. d. pathog. Mikroorg. 2. Aufl. Bd. 5. S. 775; vgl. auch Kirsch, E., Arch. f. Hyg. Bd. 78. 1913, der ein bewegliches, geißeltragendes Stäbchen fand, das er für eine Abart des Para-B. hält.)

Die mit Pseudotuberkulose behaftete Sendung Meerschweinchen war inzwischen verbraucht und damit bot sich keine Gelegenheit mehr zu weiteren Versuchen. Später wurde nur noch einige Male ein Meerschweinchen mit stark fortgeschrittener Pseudotuberkulose gefunden: hier war bereits die hämolytische Kraft des Serums fast vollständig erloschen, so daß das Co. für den Hauptversuch überhaupt nicht mehr gebraucht werden konnte.

Eine Erklärung für diese merkwürdige Erscheinung vermögen wir nicht zu geben; um so weniger, als wir ja über das Wesen der normal verlaufenden Wa-R. nur äußerst mangelhaft unterrichtet sind.

Um einen Co.-Schwund, wie er in den späteren Stadien der Erkrankung aufzutreten scheint, kann es sich hier nicht gehandelt haben; eher um eine Steigerung, die sich in der schnellen und hohen Lösung des hämolytischen Systems ausdrückte. Trat nun dieses selbe Meerschweinchenserum in Berührung mit dem menschlichen Serum syphilitischer und auch gesunder Personen und mit dem Extrakt, so wurde das Co. unwirksam gemacht, so daß z. B. in dem angeführten Versuch unter 34 Seren nur 1 Lösung des hämolytischen Systems, d. h. 1 negatives Ergebnis, eintrat. Dabei scheint der das Co. unwirksam machende Körper im wesentlichen durch das Zusammentreten des Meerschweinchenserums mit den verschiedenen menschlichen Seren aufgetreten zu sein. Das läßt sich daraus vermuten, daß auch die Serumkontrollen, in denen ja kein Extrakt enthalten ist, bei allen Seren, mit 1 Ausnahme, Hemmungen der Hämolyse zeigten, die allerdings nach mehreren Stunden Stehens bei Zimmertemperatur allmählich nachlösten. Durch Hinzutreten des Extraktes scheint diese Hemmung dann noch verstärkt worden zu sein.

Daß die syphilitischen Seren bei Anwesenheit von Extrakt das Co. unwirksam machen, hat nichts Auffallendes; darauf beruht ja die ganze Wa-R. Hier waren aber sämtliche Seren, syphilitische wie gesunde, imstande, meist schon in den sogenannten Serumkontrollen, ohne Extrakt eine Hemmung der Hämolyse herbeizuführen, die dann im Hauptversuch mit Extrakt noch verstärkt wurde und auch bei sicher nicht-syphilitischen Seren zu einer kompletten Hemmung der Hämolyse führte, wie der Parallelversuch mit dem Serum gesunder Meerschweinchen zeigte. Darin liegt gerade das Auffallende und Wesentliche der Beobachtung. In ähnlicher Weise sieht man bei größeren Beobachtungsreihen, daß bei einer oder der anderen Serumkontrolle eine Hemmung auftritt, während im Hauptversuch vollständige Hämolyse vorhanden ist. Auch aktive, d. h. nicht erwärmte, menschliche Seren gesunder Personen, steril aufbewahrt, erlangen nach 4—5 Wochen die Fähigkeit, schon in geringen Mengen ein 0,1 ccm Meerschweinchenkomplement enthaltendes hämolytisches System vollkommen unwirksam zu machen, wie Hübschmann zeigte (Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 26. 1917). Auch bei längerem Zusammenbleiben des Blutes mit den Blutkörperchen ist ähnliches beobachtet worden (Kolle-Wassermann, Bd. 7. S. 956). Hier scheint allerdings die Ursache in den menschlichen Seren zu liegen, während sie in unserem Falle in dem Serum des erkrankten Meerschweinchens gesucht werden muß.

Ob es sich bei dem Zusammentreffen des krankhaft veränderten Meerschweinchenserums mit den verschiedenen menschlichen Seren um kolloide Fällungs- oder Niederschlagserscheinungen gehandelt hat, die das Co. absorbierten, wie das ja bei dem Zusammentreffen von Antigen

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

und Serum von einigen Autoren beobachtet ist und als Ursache der Co.-Bindung angenommen wird, oder ob es sich um rein chemische Vorgänge handelte, darüber vermögen wir leider nicht einmal eine Vermutung auszusprechen. Der Mangel an Meerschweinchen und ihr hoher Preis machten es leider unmöglich, der Frage experimentell durch systematische Versuche näherzutreten. Es würde sich dann jedenfalls wenigstens haben feststellen lassen, ob die Unwirksammachung des Co. im wesentlichen durch das Zusammentreffen des kranken Meerschweinchenserums mit den verschiedenen menschlichen Seren verursacht wird, oder ob auch der Extrakt dabei eine Rolle spielt und welche. Wir behalten uns vor, unter günstigeren Bedingungen darauf zurückzukommen, und begnügen uns heute damit, auf diese auffallende Erscheinung hinzuweisen und auf eine Fehlerquelle aufmerksam zu machen, die bei den Ergebnissen der Wa-R. auftreten kann, wenn nicht darauf geachtet wird, daß das Co. von nachweislich gesunden Tieren stammt.

Die Beobachtung gab Veranlassung zu etwas eingehenderen Untersuchungen über den Co.-Gehalt des Meerschweinchenserums. Es kann hier natürlich nicht die ganze umfangreiche Literatur über die Wa-R. auf diese Frage hin durchgegangen werden. Es sei nur gestattet, aus der letzten Zeit 3 ausführlichere Arbeiten zu berücksichtigen, in denen auch die vorhergehende Literatur eingehendere Würdigung findet, so daß darauf verwiesen werden kann; es sind die Arbeiten von C. Lange (1), Kaup (2) und Sonntag (3).

Lange, ein auf dem Gebiete der Wa-R. gewiß erfahrener Autor, meint: „Als erster Hauptsatz kann nach unzähligen Versuchen gelten, daß das Serum gesunder Meerschweinchen frisch nach der Entnahme einen ganz konstanten Co.-Gehalt besitzt, was ebenso für das menschliche Serum gilt! Diese Behauptung kehrt im Laufe der Arbeit mehrfach wieder.

Demgegenüber meint Kaup in seiner sehr eingehenden und umfangreichen Studie über die Wa-R.: „Angaben über die Schwankungen des Co.-Titers sind nicht reichlich zu finden“. Seine eigenen, über eine Reihe von Monaten fortgeführten Untersuchungen ergaben, daß „Schwankungen der komplementierenden Kraft der Aktivsera in einem bestimmten Umfange vorhanden sind“, und „daß die Werte von Meerschweinchen zu Meerschweinchen und von Mischserum zu Mischserum schwanken, manchmal viele Tage den Wert von 0,01 aufweisen (d. h. die zur Lösung des hämolytischen Systems nötige Menge reinen Meerschweinchenserums), dann wieder bei gleicher Gewinnung und Behandlung die Höhe von 0,03 und 0,04 erreichen.“ Als Ursache der Schwankungen kommen in Betracht Alter, Futter, Gesundheitszustand, Entnahme vor oder nach dem Hunger, Zusammenbleiben des Serums mit dem Blutkuchen, Art der Aufbewahrung u. a. m. Er fordert, daß höchstens 1 Tag altes Serum für die Co.-Bindung Verwendung finden sollte.

Auch Sonntag ist zu der Ansicht gekommen, daß „die Wirksamkeit des Komplements keine ganz gleichmäßige ist“. „Bei gesunden Meerschweinchen sind aber diese Schwankungen erfahrungsgemäß gering und selten.“ Nach seinen Erfahrungen zeigt der Titer des Co. bei Mischung verschiedener Tiersera geringeren Wert und größere Schwankungen.

Die eingangs mitgeteilte Beobachtung veranlaßte uns zu einer experimentellen Prüfung der Frage, um ein eigenes Urteil darüber zu gewinnen. Die Versuche wurden an einzelnen Meerschweinchenseren, hauptsächlich aber an Mischseren verschiedener Tiere, angestellt mit Rücksicht auf die Verhältnisse in der Praxis, wo doch wohl in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle mit einer Mischung aus den Seren verschiedener Tiere gearbeitet wird. Die Meerschweinchen wurden am Abend gegen 5 Uhr entblutet, das Blut während der Nacht im Eisschrank aufbewahrt, das Serum am nächsten Morgen abgehoben bzw. abzentrifugiert, die Seren der verschiedenen Tiere miteinander gemischt und nun der hämolytische Vorversuch in der gewöhnlichen Weise angestellt. Mit dem 3—4-fachen Titer der sich ergebenden Ambozeptorverdünnung wurde dann eine Austitrierung der zur Lösung des hämolytischen Systems nötigen Co.-Dosis vorgenommen. Die Versuche wurden über 6 Monate fortgesetzt. Es sei nochmals hervorgehoben, daß jedesmal durch die Sektion die Gesundheit der Tiere festgestellt wurde und nur diese Meerschweinchen zum Vergleich benutzt wurden. In Uebereinstimmung mit den Angaben von Kaup und Sonntag fanden auch wir, daß keineswegs selten Schwankungen in dem Gehalt des Meerschweinchenserums an hämolytischer Kraft vorkommen, und zwar scheinen dieselben zwischen 0,01 und 0,04 reinen Serums zu liegen, wie das auch von Kaup beobachtet worden ist. 2 Beispiele werden vielleicht kürzer und schneller erläutern, was wir damit sagen wollen, als eine längere Auseinandersetzung:

I.

Dat.	Ablesung nach		10'	20'
16. Juni		Co.		
1919	Hb 0,5	0,1	++	+
	Amb. 0,5	0,2	—	—
	NaCl 1,0	0,3	—	—
		0,4	—	—
		0,5	—	—

II.

Dat.	Ablesung nach		10'	20'	2^h
4. Juli		Co.			
1919	Hb. 0,5	0,1	+++	+++	++
	Amb. 0,5	0,2	+++	++	++
	NaCl 1,0	0,3	+++	+	—
		0,4	+	+	—
		0,5	—	—	—

Erklärung: Hb 0,5 = 0,5 ccm einer 5-proz. Hammelblutaufschwemmung. Amb. 0,5 = 0,5 ccm der 4-fachen, durch den hämolytischen Vorversuch gefundenen Ambozeptorverdünnung. Co. 0,1, 0,2 usw. = 0,1 usw. einer 10-proz. Meerschweinchenserum-Verdünnung. — = gelöst; + = schwache; ++ = mittelstarke; +++ = komplette Hemmung der Hämolyse. Beobachtung und Ablesung im Wasserbade von 37° C.

Im Versuch I haben wir ein sehr wirksames Co. vor uns. Schon nach 10 Min. war im hämolytischen Vorversuch bei einer Ambozeptorverdünnung von 3200 das Blut gelöst, nach 20 Min. bei 6400. Als Ambozeptoreinheit zum Austitrieren des Co.-Bedarfs für den Versuch I wurde 1000 genommen. Wie man sieht, genügen schon etwa 0,15 der Co.-Verdünnung, um das hämolytische System zu lösen. Im Versuch II war nach 10 Min. erst die Ambozeptorverdünnung 200 und nach 20 Min. 800 gelöst. Es wurde für die Austitrierung eine Verdünnung von 200 genommen. Trotzdem reichten im Versuch 0,4 Co. noch nicht aus, um eine vollständige Lösung des Systems zu bewirken. Erst nach 2 Std. war bei 0,4 eine Nachlösung eingetreten.

Aehnlich gestalteten sich die Verhältnisse nach Zusatz von sicher negativem Serum und Extrakt zum hämolytischen System, also im Hauptversuch mit bekanntem negativen Serum.

Ia.

Dat.	Ablesung nach		10'	20'
16. Mai		Co.		
1919	No.-Ser. 0,5	0,1	+++	+++
	Extr. 0,5	0,2	—	—
	Hb 0,5	0,3	—	—
	Amb. 0,5	0,4	—	—
		0,5	—	—

IIa.

Dat.	Ablesung nach		10'	20'	2^h
31. Juli		Co.			
1919	No.-Ser. 0,5	0,1	+++	+++	+++
	Extr. 0,5	0,2	+++	++	++
	Hb 0,5	0,3	+	+	—
	Amb. 0,5	0,4	+	+	—
		0,5	—	—	—

Extrakt 0,5 = 0,5 ccm der Extraktverdünnung. No.-Ser. 0,5 = 0,5 ccm eines bekannten (verdünnten) neg. Serums. Hb, Amb., Co. wie oben.

Im Versuch Ia reichten etwa 0,15 der Co.-Verdünnung aus, um auch bei Zusatz von verdünntem negativen Serum und der gebräuchlichen Extraktverdünnung eine vollkommene Lösung herbeizuführen, d. h. den Versuch als negativ zu charakterisieren; bei IIa waren dagegen erst 0,5 der Co.-Aufschwemmung hierzu imstande.

Die beiden angeführten Beispiele stellen gewissermaßen die Extreme dar. Im allgemeinen genügten 0,2—0,3 ccm der 10-proz. Co.-Verdünnung, um auch bei Anwesenheit eines bekannten negativen Serums und der gebräuchlichen Verdünnung unseres Extraktes eine vollständige Lösung der Blutkörperchen zu bewirken; hin und wieder trifft man allerdings auch auf Meerschweinchen, deren Serum eine geringere hämolytische Kraft besitzt, so daß selbst 0,4 Co. erforderlich werden können, ohne daß auch eine genaue Sektion irgendwelche krankhaften Veränderungen im Körper als Ursache dafür aufzudeckeu vermöchte. Einen Fall, in dem selbst 0,5 nicht ausreichten, haben wir nur 1mal beobachtet; da aber in diesem Falle das Wasserbad zu hoch gestiegen war, ist der Versuch nicht ganz einwandfrei.

Auf Grund unserer Versuche sind wir ebenfalls zu der Ueberzeugung gekommen, daß die lösende Kraft der Meerschweinchenmischseren, wie sie doch wohl allgemein zur Anstellung größerer Versuchsreihen angewandt werden, auch dann, wenn die Tiere bei der Sektion gesund befunden werden und das Serum in der angegebenen Weise gewonnen und aufbewahrt wird, keineswegs immer dieselbe ist und als eine konstante Größe angenommen werden kann. Wenn nun auch zu berücksichtigen ist, daß der Ambozeptor und Extrakt nach Verbrauch hin und wieder ergänzt werden müssen, und daß das Hb jedesmal wechselt, daß also auch die anderen, das System zusammensetzenden Faktoren wechseln können, so dürfte doch wohl die Hauptursache für die schwankenden Ergebnisse in dem schwankenden Co.-Gehalt des Meerschweinchenserums liegen, auch wenn sich krankhafte Veränderungen bei dem Tier nicht nachweisen lassen. Ambozeptor und Extrakt gelten allgemein, und wohl auch mit Recht, als ziemlich konstant; das Hb. kann allerdings unter Umständen leichter Veränderungen erfahren. Trotzdem möchten wir das Hauptgewicht auf das Co. legen und in dessen Schwankungen an hämolytischer Kraft die wesentliche Ursache für die zur kompletten Lösung nötigen Mengenverhältnisse sehen. Denn man kann sich leicht durch Parallelversuche mit Einzelseren überzeugen, daß auch bei gleichem Ambozeptor und derselben Hb-Aufschwemmung die lösende Kraft des Co. beim Austitrieren nicht unerheblich schwanken kann.

Nimmt man aber den Co.-Gehalt des Meerschweinchenserums als wechselnd an, so erscheint es nur folgerichtig, vor jedem Versuch festzustellen, wieviel an dem betreffenden Tage benötigt wird, und nicht jedesmal die Menge von 0,5 zu verwenden, ohne Rücksicht auf die lösende Kraft des Co. Ist die letztere gering, wie in dem Beispiele II, II a, so wird man eine gerade ausreichende Menge zugesetzt haben; ist sie groß, wie in dem Beispiele I, I a, so wird man mit einem erheblichen Ueberschuß arbeiten. Dadurch können aber schwach positive Resultate verdeckt werden.

Es fragt sich, wie ist das Ziel, die gerade ausreichende Co.-Dosis zu finden und zuzusetzen, am einfachsten zu erreichen?

Es ist bekannt, daß das menschliche Serum durch längeres Aufbewahren, ferner während des Transportes durch Schütteln eine größere oder geringere Hemmung erfahren kann; daß ferner Seren bei gewissen erschöpfenden Krankheiten, wie Tuberkulose und Karzinom in gewissem Umfange das Co. zu binden imstande sind. Man bezeichnet diese Bindungen als unspezifische. Bei der Wa-R. handelt es sich darum, außerhalb der Breite dieser unspezifischen Hemmungen oder Bindungen zu bleiben, da nur die jenseits derselben liegenden Seren mit großer Wahrscheinlichkeit als syphilitische zu bezeichnen sind.

Praktisch liegt die Sache nun so, daß im Laufe der Woche sich die Seren allmählich ansammeln, inaktiviert und dann im Eisschrank aufbewahrt werden. Am Tage vor dem bekannten W.-Tag trifft dann das Gros ein. Bei einer Reihe von Seren wird man also schon durch das Aufbewahren, den Transport usw. mit einer gewissen Hemmung rechnen müssen, die bei der Bemessung des Co. berücksichtigt werden muß; ebenso besteht die Möglichkeit, daß unter den zu untersuchenden Seren sich solche erschöpfender Krankheiten befinden.

Um diesen unspezifischen Hemmungen zu entgehen, erschien uns der folgende Weg der einfachste: Man nimmt vom letzteren Versuch 2—3 als sicher negativ bekannte ältere Seren und titriert mit ihnen den Co.-Bedarf in der in den Beispielen I und II angegebenen Weise aus. Da die Seren bereits 8 Tage im Eisschrank aufbewahrt wurden, so ist anzunehmen, daß mindestens 1 oder mehrere einen gewissen Grad von Eigenhemmung angenommen haben. Wir haben damit die unspezifische Bindung bei der Bemessung des Co. bereits in Rechnung gestellt und dürfen annehmen, daß die durch die Titration festgestellte Co.-Menge uns schon die syphilitischen Bindungen anzeigt, um so mehr, wenn wir den Zusatz noch um etwa 0,1 erhöhen. Im Beispiele Ia würde 0,3 als ausreichend anzusehen sein, da 0,2 wahrscheinlich sogar schon 0,15 genügte, um eine komplette Lösung herbeizuführen. Wir dürfen annehmen, daß wir uns mit 0,3 sicher außerhalb der Breite der unspezifischen Bindungen befinden; durch den Zusatz von 0,5 könnten schwach syphilitische Bindungen verdeckt werden. Im Beispiele IIa war jedoch mindestens 0,5 erforderlich.

Parallelversuche, welche mit der gewöhnlichen Dosis von 0,5 und der für den Tag bzw. das Mischserum durch vorherige Titration festgestellten Menge vorgenommen wurden, ergaben, daß es auf diese Weise gelingt, noch einige Hemmungen festzustellen, von denen man annehmen darf, daß sie syphilitischer Natur sind. Bei der Dosis von 0,5 traten sie nicht in die Erscheinung.

Eine Austitrierung des Co. ist ja von verschiedenen Autoren empfohlen worden. Wesentlich erscheint uns jedoch, daß dieselbe mit mehreren als negativ bekannten älteren Seren vorgenommen wird, um dadurch außerhalb der Breite einer etwa vorhandenen unspezifischen Bindung zu bleiben und doch noch schwächer reagierende syphilitische Seren aufzufinden, die sonst der Beobachtung entgehen, wenn stets 0,5 Co. zugesetzt werden, ohne Rücksicht auf dessen Wirkung an dem betreffenden Tage.

Eine derartige Austitrierung geht schnell und kann von jeder einigermaßen eingearbeiteten Laborantin ausgeführt werden. Noch genauer und eingehender ist allerdings das Verfahren von Kaup, der im Hauptversuche austitriert, wieviel Co. jedes einzelne Serum zu binden vermag, und danach das Resultat beurteilt. Ein derartiges Vorgehen führt jedoch dazu, daß für die Auswertung jedes einzelnen Serums allein 8! Röhrchen gebraucht werden (l. c. S. 101, Schema), und dürfte daher technisch wohl auf Schwierigkeiten stoßen, wo an einem Morgen mehrere hundert Seren untersucht werden müssen und nicht ganz ungewöhnlich viele Hilfskräfte zur Verfügung stehen.

Sehr empfehlenswert erscheint dagegen, neben der oben angegebenen Austitrierung des Co. vor dem Versuch, die Benutzung von 2 Extrakten, da die Bindung verschiedener Seren mit verschiedenen Extrakten eine verschiedene ist, wie man sich leicht durch den Versuch überzeugen kann. Sonntag hält eine Austitrierung der Seren mit fallenden Dosen verschiedener Extrakte für das genaueste Verfahren.

Es ist anzunehmen, daß beide Methoden, d. h. die Austitrierung jedes einzelnen Serums auf seine Co.-Bindung, wie **Kaup** es empfiehlt, und die Austitrierung mit fallenden Antigenmengen verschiedener Extrakte, für die besonders **Sonntag** eintritt, unter Umständen feinere diagnostische Schlüsse erlauben; nur dürfte das Verfahren für zahlreiche Untersuchungen an größeren Instituten doch etwas zu zeitraubend sein und einen zu großen technischen Apparat erfordern. Praktisch scheint uns die oben angegebene jedesmalige Bestimmung des Co.-Bedarfs mit mehreren älteren Seren als ausreichend. Sie hat außerdem noch den Vorteil, daß in den meisten Fällen an Co. gespart werden kann, das bekanntlich das teuerste Reagens ist, und die Reaktion dadurch noch an Empfindlichkeit gewinnt.

Zusammenfassung.

1) Das Co. anscheinend vollkommen gesunder Meerschweinchen, die aber doch mit beginnender Pseudotuberkulose behaftet waren, löste im hämolytischen Vorversuch auffallend schnell und hoch, rief dagegen im Hauptversuch erheblich mehr Hemmungen verschiedenen Grades hervor, als das Co. gesunder Tiere. Es erscheint daher notwendig, jedesmal nach dem Entbluten der Meerschweinchen eine genaue Sektion vorzunehmen, um nicht zu fehlerhaften Resultaten zu kommen.

2) Der Co.-Gehalt auch gesunder Meerschweinchen ist ein schwankender. Es sollte daher stets eine Titration des Co. mit einigen bekannten älteren, negativen Seren vorgenommen werden, um danach die Gebrauchsdosis für den Hauptversuch zu bestimmen.

Literatur.

1) **Lange**, C., Die Lebensdauer der für die Wassermannsche Reaktion benötigten Reagentien. (Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 26. 1917. S. 396.)
2) **Kaup**, J., Kritik der Methodik der Wassermannschen Reaktion usw. (Arch. f. Hyg. Bd. 87. 1917. S. 1.)
3) **Sonntag**, E., Die Wassermannsche Reaktion. [Habilitationsschrift.] Berlin (J. Springer) 1916.

Nachdruck verboten.

Vergleichende Untersuchungen über die Widerstandsfähigkeit von Anaërobensporen gegen Siedehitze in Hirnbreiröhrchen.

[Aus dem bakteriologischen Untersuchungsamt der Stadt Altona.
(Vorstand: Dr. Zeissler).]

Von **Leopold Becker.**

v. **Hibler** hat in seinem Werke „Untersuchungen über die pathogenen Anaërobier“ (7) in dem Kapitel „Ueber die Widerstandsfähigkeit der Sporen gegen Siedehitze“ grundlegende Angaben über die Resistenz der Anaërobensporen gegen Siedehitze gemacht. Seine Untersuchungen ergaben, daß die Sporen gewisser Anaërobenarten annähernd gleiche Widerstandsfähigkeit, im Gegensatz zu denen anderer Arten, zeigen, und daß in letzterem Falle die Unterschiede in der Resistenz der Sporen gegen Siedehitze sehr bedeutend sein können. Die Sporen mancher Arten verlieren schon durch kurze, nur wenige Minuten dauernde Einwir-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

kung der Siedehitze (Kochscher Dampftopf) ihre Keimfähigkeit, während die Sporen anderer Arten eine und mehrere Stunden der Einwirkung der Siedehitze widerstehen. Die Unterschiede in der Hitzebeständigkeit der Sporen dienen Hibler als Gruppenreaktion für die Differentialdiagnose der untersuchten Anaërobenarten sowie für die Isolierung der Arten mit Sporen größerer Widerstandsfähigkeit von denen mit Sporen von geringerer Hitzebeständigkeit aus Mischkulturen resp. Rohmaterial.

Während Hibler seine Untersuchungen an 56 Anaërobenstämmen 15 verschiedener Art ausführte, sind die Ergebnisse, über die im Folgenden berichtet wird, an den Reinkulturen von 141 präzise bestimmten Stämmen 11 verschiedener Arten der Zeisslerschen Anaërobensammlung (4, 5, 6, 24) gewonnen worden. v. Hibler (7) entnahm das zur Prüfung bestimmte Sporenmaterial (einen bis wenige Tropfen) verschiedenartigen Kulturmedien — verschiedenaltrige Hirnbreikulturen, Sodahirnbrei, Agar, Transsudat, Pferdeblutserum, Hühnereiweiß, Bouillon etc. — und brachte es mittels Kapillarpipetten in die Tiefe von Hirnbrei (Röhrchen von natürlicher, wohl meist saurer Reaktion).

Nach dem Beimpfen setzte er die Röhrchen, ohne sie noch vorher zu bebrüten, im Kochschen Dampftopf der Innsbrucker Siedehitze (97 bis 98° C) verschieden lange Zeit aus (3, 5, 9 Min. 1/2, 1 und mehrere Std.). Die nach Ablauf der betreffenden Zeit aus dem Dampftopf entfernten Röhrchen wurden nach dem Erkalten — ohne besondere Abkühlungsmaßnahmen — zur Bebrütung in den Brutschrank gestellt.

Mein Verfahren weicht von dem Hiblers in verschiedenen Punkten prinzipiell ab. Die zu untersuchende Kultur wurde zunächst aus der Dauerkultur (die Anaërobenstämme der Zeisslerschen Sammlung werden ausschließlich in Blutbouillon konserviert (4, 5 und 24) in frischen Hirnbrei gebracht. Der Hirnbrei dürfte in verschiedener Beziehung für den vorliegenden Zweck das geeignetste Kultursubstrat sein. Er ist, im Gegensatz z. B. zu Serumnährböden, leicht und zuverlässig im Autoklaven zu sterilisieren, alle Anaëroben entwickeln sich in ihm hervorragend gut und bilden auch bei geeigneter Reaktion des Nährbodens (S. 77) mit Sicherheit Sporen. Wie die Untersuchungen v. Hiblers (7) ergeben haben, steht die Hitzebeständigkeit der in Hirnbrei gebildeten Sporen den entsprechenden, in anderen Nährsubstraten gebildeten Anaërobensporen nicht nach, und schließlich wird der Hirnbrei durch wiederholtes und selbst stundenlanges Erhitzen im Dampf qualitativ nicht verändert, wie z. B. gelatine- und zuckerhaltige Nährböden. Die mit der Kapillarpipette aus den Blutbouillondauerkulturen beimpften Hirnbreiröhrchen wurden im Maaßenschen Apparat (4, 5, 24), je nach der Art des betreffenden Stammes, 2—7 Tage im Brutschrank bebrütet und dann zur Kontrolle auf Angehen und Reinheit auf eine Traubenzuckerblutagarplatte [19[1])] und ein Schrägagarröhrchen übergeimpft. Erstere wurde anaërob (24), letzteres aërob 3 Tage lang bei 37° bebrütet. Nur Kulturen, bei denen die Traubenzuckerblutagarplatte das Angehen der Kultur, ihre Reinheit und die für ihre Art charakteristische und spezifische Wuchsform (24) gezeigt und das Schrägagarröhrchen das Fehlen aërober Verunreinigungen sichergestellt hatte, wurden im Kochschen Dampftopf (Altonaer Siedehitze 100° C) erhitzt, wenn außerdem die mikroskopische Untersuchung der betreffenden Hirnbreikultur das Vorhandensein von Sporen ergeben hatte. Falls aus äußeren

---

1) Als Blutzusatz zur Traubenzuckerblutagarplatte habe ich ausschließlich Menschenblut verwendet.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Gründen die Erhitzungsversuche nicht unmittelbar an die kulturelle und mikroskopische Vorprüfung der zur Erhitzung bestimmten Hirnbreikulturen angeschlossen werden konnte, wurden diese bei Zimmertemperatur, nicht etwa im Brutschrank, bis höchstens 14 Tage lang aufbewahrt, da nach den Erfahrungen v. Hiblers (7) Anaërobenkulturen, vor allem den Hirnbrei nicht schwärzende Arten, durch längeren Aufenthalt bei Bruttemperatur in ihrer Vitalität beeinträchtigt werden können.

Gegenüber v. Hibler (7) gelangten bei meinen Untersuchungen Hirnbreikulturröhrchen zur Erhitzung, die vollkommen von der zu untersuchenden Anaërobenart durchsetzt waren, während sich bei v. Hibler nur ein verschwindend kleines Klümpchen des zu untersuchenden Sporenmaterials in den Hirnbreiröhrchen befand. Die bei meiner Arbeitsweise durch das vorherige Bebrüten der zur Erhitzung bestimmten Hirnbreiröhrchen gewährleistete gleichmäßige Durchsetzung der gesamten Hirnbreimasse mit Sporen läßt die deletäre Wirkung der Erhitzung auf die Sporen erst dann in Erscheinung treten, wenn (grob ausgedrückt) sämtliche in der Hirnbreimasse verteilte Sporen ihrer abtötenden Wirkung genügend lange ausgesetzt gewesen sind, d. h. also, wenn die Siedehitze in allen einzelnen Teilen der gesamten Hirnbreischicht eine für die betreffende Bazillenart zur Abtötung der Sporen ausreichende Zeit bestanden hat, während das Zustandekommen der Resultate nach dem v. Hiblerschen Verfahren insofern von Zufälligkeiten abhängt, als die minimalen, in das Hirnbreiröhrchen eingebrachten Sporenmengen (das Hirnbreiröhrchen wurde vor der Erhitzung nicht bebrütet) natürlich nicht gleichmäßig in der ganzen Hirnbreimasse verteilt, sondern nur an bestimmten, von Fall zu Fall örtlich verschiedenen Teilen (verschiedenen Punkten) eingebettet sind. Befinden sie sich zufällig ganz oder vorwiegend in den äußersten Schichten des Hirnbreies, so müssen sie der Wirkung der Siedehitze in kürzerer Zeit erliegen, als wenn sie ganz oder zum Teil in der Mitte der Hirnbreischicht gelagert wären. Dieses Moment muß wenigstens für kürzere Erhitzungszeiten berücksichtigt werden.

Die Kontrolle auf der Traubenzuckerblutagarplatte gibt die Gewißheit (1, 4, 5, 6, 8, 16, 17, 21, 24), daß die der Siedehitze auszusetzenden Kulturen Reinkulturen ihrer Art und nicht etwa Mischkulturen oder durch andere Sporenbildner verunreinigt sind, deren Sporenresistenz andersartig ist und somit das Untersuchungsergebnis fälschen könnte. Nach beendeter Erhitzung wurden die Hirnbreiröhrchen durch sofortiges Eintauchen in kaltes Wasser schnell frappiert, um möglichst genau nur während der Zeit ihres Aufenthaltes im Dampftopf die Siedehitze auf das Sporenmaterial einwirken zu lassen. Bei langsamem Abkühlen des bei Zimmertemperatur schwer die Hitze abgebenden Hirnbreiröhrchens können die der Siedetemperatur naheliegenden Hitzegrade sicherlich noch eine weitere Schädigung des schon erhitzten Sporenmaterials bewirken. Damit würde jedoch ein anderer Faktor, als nur die Einwirkung der Siedehitze die Keimfähigkeit der Sporen beeinträchtigen. Nach dem Frappieren wurden die Hirnbreiröhrchen im Maaßenschen Apparat zum Wiederausbrüten der erhitzten Sporen je nach der Art der erhitzten Anaërobier 2—8 Tage zur Bebrütung in den Brutschrank gestellt.

v. Hibler (7) bediente sich als Kontrolle für das Angehen der in Hirnbreiröhrchen (vor ihrer Erhitzung) eingeimpften Proben der Gasbildung sowie der Trübung der Flüssigkeit — besonders der über den Hirnbreiteilen lagernden Schicht — und in entsprechenden Fällen der

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Schwärzung desselben. Dagegen wurde bei meinen Versuchen, sobald die erhitzten Kulturen durch Gasbildung ein Wiederauskeimen der Sporen zeigten, oder aber nach etwa 4-tägiger (bei nicht schwärzenden Arten) oder etwa 7-tägiger (bei Hirnbrei schwärzenden Arten) Bebrütung der erhitzten Proben zunächst eine Traubenzuckerblutagarplatte, und, falls diese steril blieb, ein neues Hirnbreiröhrchen oder auch ein Leberbouillonröhrchen (4, 5. 24) und von diesem wiederum eine Traubenzuckerblutagarplatte beimpft. Zur Erzielung eines einwandfreien Versuchsergebnisses erwies sich eine Kontrolle auf der Traubenzuckerblutagarplatte als durchaus notwendig, da ich mehrfach die Beobachtung gemacht habe, daß sowohl Kulturen, bei denen keine bemerkenswerte Gasentwicklung eingetreten war, trotzdem auf der Traubenzuckerblutagarplatte typisches Wachstum zeigten (5, 6, 24), wie auch, daß Gasbildung in Hirnbreiröhrchen gelegentlich durch Verunreinigungen bedingt sein kann. Die negativ ausgefallenen Proben wurden noch weitere 2—3 Tage bebrütet und dann zur Prüfung auf etwaiges später eingetretenes Wachstum nochmals in der vorher beschriebenen Weise kontrolliert.

Genau wie Eugen Fraenkel, Gähtgens und Zeissler (24) habe auch ich zur Gewinnung von Hirnbrei nur menschliche Gehirne verwendet; welche längstens 24 Std. nach dem Tode den Leichen entnommen waren, makroskopisch keinerlei krankhafte Veränderungen aufwiesen und vor allem absolut frisch aussahen. Das letztere Moment halte ich nach den Erfahrungen v. Hiblers (7) für besonders wichtig, denn von ihm hängt nicht unwesentlich die Reaktion der Gehirnmasse ab. Nach v. Hibler können nicht ganz frische Gehirne eine, wenn auch nicht absolut, so doch für die Versporung gewisser Anaërobier immerhin so stark saure Reaktion haben, daß die Versporung nicht zustande kommen kann. Das scheint z. B. nach v. Hiblers textlichen Ausführungen (7, S. 196) beim Novy-Bazillus der Fall zu sein (vgl. S. 76). Die Gehirne wurden sofort nach ihrer Entnahme aus der Leiche enthäutet, in der Fleischmaschine zerkleinert, durch ein Metallhaarsieb gerührt und der so gewonnene Brei um ein Drittel mit Leitungswasser aufgefüllt und 2 Std. zur Austreibung der Luft in einem großen Kolben im Dampftopf gekocht. Dann (event. am nächsten Tage) wird dem Hirnbrei, falls er nicht in natürlicher Reaktion benutzt werden soll (S. 75), durch Zugabe 50-proz. Kalilauge unter Kontrolle von Kongorot als Indikator die gewünschte Alkaleszenz gegeben. Von dem in dieser Weise fertiggestellten Hirnbreiröhrchen wurden in hoher Schicht ungefähr 8 ccm zu allen Erhitzungsversuchen in gleich enge Reagenzröhrchen von etwa 1,2 cm Durchmesser und $^3/_4$ mm Wandstärke gefüllt. Die Masse der zu erhitzenden Substanz und die Dicke ihrer Schicht ist für den Ausfall der Erhitzungsversuche, wenigstens soweit kürzere Erhitzungszeiten in Betracht kommen, von Bedeutung. Obwohl bei meinen Versuchen eine geringere Masse Hirnbrei in dünnerer Schicht (engere Reagenzröhrchen) erhitzt wurde als bei den v. Hiblerschen Versuchen, so haben sich trotzdem bei mir durchweg höhere Resistenzwerte für die Anaërobensporen mit geringerer Hitzebeständigkeit ergeben, als bei v. Hibler für die entsprechenden Arten. Abgesehen von der auf S. 73 erörterten gleichmäßigen Verteilung des Sporenmaterials in den von mir vor der Erhitzung bebrüteten Hirnbreiproben, gegenüber den v. Hiblerschen mit nur ganz wenig Sporenmaterial beimpften (vor der Erhitzung nicht bebrüteten Proben), dürfte die in meinen Versuchen festgestellte, relativ große Hitzebeständigkeit der Sporen gewisser Anaërobenarten bei bestimmter Versuchsanordnung auf der Reaktion des verwendeten Hirnbreisubstrates beruhen.

Das trifft vor allen Dingen bei dem Fraenkelschen Gasbazillus zu, bei welchem schon v. Hibler (7) aus Hirnbrei mit 1 Prom. Sodagehalt (1 Proz. einer 10-proz. Sodalösung) meist höhere Sporenresistenz erhalten hatte, als aus Hirnbrei natürlicher oder weniger stark alkalischer Reaktion. Ferner haben nichtveröffentlichte Versuche Eugen Fraenkels ergeben, daß sein Bazillus in Agar von 2—3 Prom. Sodagehalt gut versport, während er in neutralem Agar keine Sporen bildet. Deshalb wurden bei meinen Untersuchungen für die Prüfung der Sporen des Fraenkelschen Gasbazillus durchweg Hirnbreikulturen verwendet, deren Nährsubstrat einen Ueberschuß von 25 ccm Normalkalilauge gleich 1,4 g Kaliumhydroxyd in Substanz auf 1 l Hirnbrei enthielt, entsprechend einem Sodagehalt von $2\,^3/_4$ Prom. über den Kongorotneutralpunkt. Die im Vergleich mit den v. Hiblerschen (7) Ergebnissen sehr hohen Resistenzwerte der Fraenkel-Sporen in meinen Untersuchungen (Tab. 7) zeigen unzweideutig, daß die von mir gewählte Reaktion des Hirnbreies für die Sporenbildung mit Rücksicht auf die Qualität der Sporen des Fraenkelschen Gasbazillus der von Hibler benutzten Hirnbreireaktion beträchtlich überlegen ist.

v. Hibler (7) führt, wie schon oben erwähnt, im Text seines 1. Abschnittes des VI. Kapitels über die Entstehung der Sporen aus, daß, im Gegensatz zum Fraenkelschen Gasbazillus, alle von ihm untersuchten, begeißelten Anaërobier im Hirnbrei natürlicher Reaktion regelmäßig Sporen bilden, mit Ausnahme des Novyschen Bazillus, bei welchem die Sporenbildung in saurem Hirnbrei regelmäßig ausbleiben soll. Mit Rücksicht auf diese Angaben v. Hiblers wurden meine Untersuchungen der Hitzebeständigkeit der Sporen der begeißelten Anaërobier in 2 Serien ausgeführt; einerseits an Hirnbreikulturen mit natürlicher Reaktion des Nährsubstrates, andererseits an solchen, bei welchen der Hirnbrei 12,5 ccm Normalkalilauge = 0,7 g Kaliumhydroxyd in Substanz auf 1 l Hirnbrei, entsprechend einem Sodagehalt von 1,4 Prom. über den Kongorotneutralpunkt, enthielt. Diese vergleichenden Prüfungen ergaben (Tab. 1—3), daß die in Hirnbrei vorstehend angegebener Alkaleszenz gebildeten Sporen mehr oder weniger längere Zeit der Siedehitze standhielten als die gleichartigen in Hirnbrei natürlicher Reaktion gebildeten Sporen. Ganz besonders deutlich, ja auffällig und gleichmäßig tritt dieses Verhalten bei den Sporen des Fothschen Rauschbrandbazillus hervor. Im Gegensatz zu v. Hiblers obenerwähnten textlichen Ausführungen, jedoch in voller Uebereinstimmung mit seinen diesbezüglichen tabellarischen Angaben (7, S. 219), bildete der einzige von mir untersuchte Novy-Stamm (Tab. 6) auch in Hirnbreiproben natürlicher Reaktion, welche von verschiedenen Gehirnen zu verschiedenen Zeiten hergestellt worden waren, ebenso regelmäßig und ebenso hitzebeständige Sporen, wie in Hirnbrei der vorerwähnten Alkaleszenz. Die von mir beobachtete regelmäßige Versporung des von mir untersuchten Novy-Stammes dürfte auf der ausschließlichen Verwendung und schnellen Verarbeitung ganz frischer Gehirne beruhen (S. 74). Hirnbrei natürlicher Reaktion eignet sich also nach meinen, allerdings nur an einem Stamm gemachten und nach den oben erwähnten der v. Hiblerschen Tabelle zugrundeliegenden Erfahrungen für die sichere Gewinnung in ihrer Hitzebeständigkeit vollwertiger Novy-Sporen ebenso gut wie alkalischer Hirnbrei, sofern nur ganz frische und auch sonst tadellose Gehirne verwendet werden (S. 74). Die Rücksicht auf die Sporulation des Novyschen Bazillus verlangt hiernach, im Gegensatz zu v. Hiblers vorerwähnten textlichen, durch Anführung genauerer tatsächlicher Angaben nicht gestützten Ausführungen keineswegs die Verwendung alkalisch gemachten Hirnbreies.

Ebensowenig wie die beim Novyschen Bazillus im Hirnbrei alkalischer Reaktion gebildeten Sporen eine größere Hitzebeständigkeit als die im Hirnbrei natürlicher Reaktion entwickelten, ist das bei den Sporen sämtlicher von mir untersuchten Hirnbrei schwärzenden Anaërobenarten der Fall (Tab. 4, 8—11). Einige dieser Arten zeigen vielmehr ein entgegengesetztes Verhalten, indem bei ihnen die in Hirnbrei natürlicher Reaktion gebildeten Sporen der Siedehitze längere Zeit widerstanden, als die aus alkalischem Hirnbrei stammenden Sporen.

Die Durchsicht der Tab. 1—6 und 8—11 ergibt keine durchgreifenden Unterschiede bei Zugrundelegung kurzer Zeitintervalle, dagegen ordnen sich alle geprüften begeißelten Anaërobenarten zwanglos in 2 große Gruppen, von denen die Sporen der einen Gruppe 2—15 Min. (Hirnbrei natürlicher Reaktion) resp. 2—20 Min. (Hirnbrei schwach alkalischer Reaktion) (Tab. 1—3, 5) der Siedehitze widerstehen, die der anderen Gruppe 1 Std. und mehr, ohne Rücksicht auf die Reaktion des Hirnbreies (Tab. 4, 6, 8—11).

In die 1. Gruppe fallen:
der Kittsche Rauschbrandbazillus,
der Fothsche Rauschbrandbazillus,
die I. Art der Bazillen des malignen Oedems,
die III. „ „ „ „ „ „
} Hirnbrei nicht schwärzend

In die 2. Gruppe fallen:
der Novysche Bazillus,
die II. Art der Bazillen des malignen Oedems,
der Tetanusbazillus,
der Bacillus putrificus Bienstock,
der Bac. putrificus tenuis,
der „ „ verrucosus.
} Hirnbrei schwärzend

Abgesehen vom Novyschen Bazillus, stimmt die durch die Hirnbreischwärzung gegebene Gruppeneinteilung der begeißelten Anaërobier mit der auf die Hitzeresistenz ihrer Sporen begründeten überein[1]. Der Novysche Bazillus ist die einzige, Hirnbrei nicht schwärzende, begeißelte Anaërobenart, deren Sporen eine sonst nur für die Hirnbrei schwärzenden begeißelten Anaërobier charakteristische Widerstandsfähigkeit gegen Siedehitze von mehr als 1 Std. zukommt. Für die Differenzierung und Artbestimmung des Novy-Bazillus gegenüber den anderen, Hirnbrei nicht schwärzenden Anaërobenarten ist darum die Prüfung der Hitzebeständigkeit der Sporen von ausschlaggebender Bedeutung (7, 6, 21, 22 und 24). Die aus den auf S. 75 ausgeführten Gründen in Hirnbrei der dort angegebenen hohen Alkaleszenz entwickelten Sporen des Fraenkelschen Gasbazillus hielten zwischen 8 Min. und 1 $^1/_2$ Std. der Siedehitze stand. Infolgedessen läßt sich der Fraenkelsche Gasbazillus nicht in das vorstehende Schema einfügen. Seine Abtrennung von den anderen Anaërobenarten ist im übrigen, zumal bei Gebrauch der Traubenzuckerblutagarplatte (1, 8, 15, 16, 17, 21, 22, 23, 24), trotz Kolles (2, 3, 10) und Schloßbergers (13, 14) gegenteiligen Erfahrungen, die auf offenbar falsch diagnostizierten Testkulturen beruhen (2, 3, 12, 18, 20, 23, 24), so einfach und sicher, daß für die Artbestimmung des Fraenkelschen Gasbazillus die Bestimmung der Hitzebeständigkeit seiner Sporen überflüssig ist. Nach alledem ist also die Prüfung der Sporenresistenz gegen Siedehitze von ausschlaggebender Bedeutung für die Differenzierung und Artbestimmung der begeißelten Anaërobier, und zwar bei den Hirnbrei schwärzenden zur Abtrennung der Hiblerschen Art XV, bei den Hirnbrei nicht schwärzenden zur Abtrennung des Novyschen Bazillus. Die Hitzeresistenzprüfung der Sporen in der oben beschriebenen Weise ist also ein unentbehrlicher Bestandteil der Differentialdiagnostik der begeißelten Anaërobier. Da (bei den begeißelten Anaërobiern) die Hitzeresistenzwerte der Sporen der Arten mit geringerer Hitzebeständigkeit (unter 1 Std.) bei den Sporen aus Hirnbrei natürlicher Reaktion niedriger, zum Teil beträchtlich niedriger ist als die Werte der entsprechenden Sporen aus alkalisch gemachtem Hirnbrei (Tab. 1—3), dagegen die Hitzeresistenzwerte der Sporen der Arten mit hoher Hitzeresistenz (über 1 Std.) bei den Sporen aus Hirnbrei natürlicher Reaktion nicht niedriger sind als die Werte der entsprechenden Sporen aus schwach alkalisch gemachtem Hirnbrei (Tab. 4, 6, 8—11) ist bei durchgehender Verwendung von Hirnbrei natürlicher Reaktion der Abstand zwischen den beiden großen Gruppen, in welche die begeißelten Anaërobier nach der Hitzebeständigkeit ihrer Sporen zu ordnen sind (S. 76), nicht unbeträchtlich größer als bei Verwendung schwach alkalisch gemachten Hirnbreies, indem mit Hirnbrei natürlicher Reaktion der höchste von mir festgestellte Wert der 1. Gruppe 15 Min. (Tab. 1) betrug gegen 20 Min. (Tab. 1) mit schwach alkalisch gemachtem Hirnbrei. Die durch die Hitzeresistenzprüfung der Sporen nachweisbaren, groben Differenzen zwischen der Gruppe mit geringerer Sporenresistenz gegenüber Siedehitze und der mit höherer Sporenresistenz treten also bei Verwendung von Hirnbrei natürlicher Reaktion deutlicher hervor als mit schwach alkalisch gemachtem Hirnbrei. Da außerdem die Verwendung schwach alkalisch gemachten Hirnbreies gegenüber solchem von natürlicher Reaktion, wenn er aus frischen Gehirnen in der auf S. 74 beschriebenen Weise hergestellt ist, für den vorliegenden Zweck keine Vorteile bietet (auch nicht für den Novyschen Bazillus S. 75), halte ich zur Prüfung der Sporen der begeißelten Anaërobier gegen Hitzebeständigkeit den Hirnbrei natürlicher Reaktion für das geeignetste Substrat.

---

[1] Die Hiblersche (7) Art XV, deren Sporen, im Gegensatz zu den Sporen aller anderen Hirnbrei schwärzenden Anaërobenarten nur wenige Minuten (6 Min.) der Siedehitze widerstehen, ist mir bis jetzt nicht begegnet.

Zusammenfassung.

1) Die Sporen der verschiedenen Anaërobenarten zeigen in Hirnbreiröhrchenkulturen große Unterschiede in ihrer Widerstandsfähigkeit gegen Siedehitze (S. 75).

2) Für die Resistenzprüfungen der Sporen gegen Siedehitze eignet sich am besten:

a) für den Fraenkelschen Gasbazillus ein alkalischer Ueberschuß von 25 ccm Normalkalilauge = 1,4 g Kaliumhydroxyd in Substanz auf 1 l Hirnbrei, entsprechend einem Sodagehalt von 2 $^3/_4$ Prom. über dem Kongorotneutralpunkt (S. 75),

b) für die begeißelten Anaërobier Hirnbrei natürlicher Reaktion (S. 77).

3) Für die Artbestimmung und Differenzierung des Fraenkelschen Gasbazillus gegenüber den anderen Anaërobiern ist die Prüfung der Hitzebeständigkeit seiner Sporen ungeeignet und überflüssig (S. 77).

4) Für die Artbestimmung und Differenzierung des Novyschen Bazillus gegenüber den anderen begeißelten. Hirnbrei nicht schwärzenden Anaërobiern und der Hiblerschen Art XV gegenüber den anderen begeißelten, Hirnbrei schwärzenden Anaërobiern ist die Prüfung der Hitzebeständigkeit der Sporen von ausschlaggebender Bedeutung (S. 76) und darum ein unentbehrlicher Bestandteil der Differentialdiagnostik der begeißelten Anaërobier.

5) Auf Grund der Hitzebeständigkeit ihrer Sporen gegen Siedehitze ordnen sich die begeißelten Anaërobier zwanglos in 2 Gruppen. Die Sporen der 1. Gruppe widerstehen der Siedehitze weniger als 1 Std., die der 2. Gruppe 1 Std. und darüber (S. 76).

Literatur.

1) Fraenkel, Eugen, Ueber die Reinzüchtung der Krankheitserreger des malignen Oedems und Gasbrandes aus infizierten Wunden. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 81. 1908. S. 13.) — 2) Ders., Untersuchungen über die Biologie der Bakterien der Gasödemgruppe. [Bemerkungen.] (Med. Klin. 1908. No. 24.) — 3) Ders., Sitzungsber. d. Hamburg. Aerztever. v. Okt. 1918. (Deutsch. med. Wochenschr. 1918. No. 51.) — 4) Ders. u. Zeissler, Johannes, Die Differenzierung pathogener Anaërobier. (München. med. Wochenschr. 1919. S. 39.) — 5) Dies., Die Differenzierung pathogener Anaërobier. (Erscheint spater.) — 6) Gaehtgens u. Zeissler, Untersuchungen über den Novyschen Bazillus und über 3 verschiedenen Arten angehörende apathogene putrifizierende anaërobe Bazillen. (Erscheint später.) — 7) v. Hibler, Untersuchungen über die pathogenen Anaërobier. Jena (Gust. Fischer) 1908. — 8) Kitt, Die Unterscheidung der malignen Oedem- und Gasbrandkrankheiten in der Tierärztlichen Praxis. (München. tierärztl. Wochenschr. Jg. 69. 1908. No. 40/42.) — 9) Klose, Der Rauschbrand und verwandte Erkrankungen der Tiere. [Bemerkungen zur Arbeit von J. Zeissler.] (Berlin. klin. Wochenschr. 1919. S. 296.) — 10) Kolle, Ritz u. Schlossberger, Untersuchungen über die Biologie der Gasödemgruppe. (Med. Klin. 1918. No. 12.) — 11) Plout, H. J., Beitrag zur Geschoßuntersuchung auf aërobe und anaërobe Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 81. 1918. S. 41) — 12) Ders., Bemerkungen über die Biologie der Bakterien der Gasödemgruppe. [Bemerkungen.] (Med. Klin. 1918. No. 24.) — 13) Schlossberger, H., Die Differenzierung der anaëroben Gasödembakterien. (München. med. Wochenschr. 1919. S. 348.) — 14) Ders., Die Hämotoxine der Gasbrandbakterien. (Arb. a. d. Instit. f. experim. Ther. u. d. Georg Speyer-Hause. 1919. H. 6. S. 33; H. 7. S. 3.) — 15) Zeissler, Zur Züchtung des Bacillus phlegmonis emphysematosae Eugen Fraenkel. (Deutsch. med. Wochenschr. 1917. No. 28.) — 16) Zeissler, Ueber die Reinzüchtung pathogener Anaërobier. (Deutsch. med. Wochenschrift. 1917. No. 48.) — 17) Ders., Ueber die Reinzüchtung pathogener Anaërobier. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 86. 1918. S. 52.) — 18) Ders., Untersuchungen über die Biologie der Bakterien der Gasödemgruppe. (Bemerkungen zu der gleichlautend überschriebenen Arbeit von Kolle, Ritz u. Schlossberger. (Med. Klin. 1918. No. 24.) — 19) Ders., Die Pferdeblut- oder Schafblut-Traubenzuckeragarplatte als Ersatz für die Menschenblut-Traubenzuckeragarplatte zur Züchtung pathogener Anaërobier. (Deutsch. med. Wochenschr. 1918. No. 34.) — 20) Ders., Anaerobenmutation. (Deutsch. med. Wochenschr. 1918. No. 51.) — 21) Ders., Der Rauschbrand und verwandte Erkrankungen der Tiere. (Berlin. klin. Wochenschr. 1919. S. 107.) — 22) Ders., Der Rauschbrand und verwandte Erkrankungen der Tiere. (Erwiderungen auf Kloses „Bemerkungen"). (Berlin. klin. Wochenschr. 1919. No. 21. — 23) Ders., Die Differenzierung der anaëroben Gasödembakterien. (Bemerkungen zu der in No. 13 dieser Wochenschr. erschienenen gleichlautenden Arb. v. Schlossberger). München. med. Wochenschr. No 23.) — 24) Ders., Menschliche Wundinfektionen und Tierseuchen (Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haust. 1920.)

Tabelle 1. Der Kittsche Rauschbrandbazillus[1]).

41 Stämme.

Höchster Hitzeresistenzwert der Sporen in Hirnbrei natürlicher Reaktion 15 Minuten.

Niedrigster Hitzeresistenzwert der Sporen in Hirnbrei natürlicher Reaktion 2 Minuten.

Durchschnitt 5½ Minuten.

Höchster Hitzeresistenzwert der Sporen in Hirnbrei alkalischer Reaktion 20 Minuten.

Niedrigster Hitzeresistenzwert der Sporen in Hirnbrei alkalischer Reaktion 2 Minuten.

Durchschnitt 11 Minuten.

Tabelle 2. Der Fothsche Rauschbrandbazillus.

29 Stämme.

Höchster Hitzeresistenzwert der Sporen in Hirnbrei natürlicher Reaktion 4 Minuten.

Niedrigster Hitzeresistenzwert der Sporen in Hirnbrei natürlicher Reaktion 2 Minuten.

Durchschnitt 3 Minuten.

Höchster Hitzeresistenzwert der Sporen in Hirnbrei alkalischer Reaktion 12 Minuten.

Niedrigster Hitzeresistenzwert der Sporen in Hirnbrei alkalischer Reaktion 6 Minuten.

Durchschnitt 8½ Minuten.

Tabelle 3. Die I. Art der Bazillen des malignen Oedems.

5 Stämme.

Höchster Hitzeresistenzwert der Sporen in Hirnbrei natürlicher Reaktion 4 Minuten.

Niedrigster Hitzeresistenzwert der Sporen in Hirnbrei natürlicher Reaktion 2 Minuten.

Durchschnitt 3 Minuten.

Höchster Hitzeresistenzwert der Sporen in Hirnbrei alkalischer Reaktion 6 Minuten.

Niedrigster Hitzeresistenzwert der Sporen in Hirnbrei alkalischer Reaktion 3 Minuten.

Durchschnitt 4 Minuten.

Tabelle 4. Die II. Art der Bazillen des malignen Oedems[2]).

1 Stamm.

Hitzeresistenzwert der Sporen in Hirnbrei natürlicher Reaktion 180 Minuten.
Hitzeresistenzwert der Sporen in Hirnbrei alkalischer Reaktion 120 Minuten.

Tabelle 5. Die III. Art der Bazillen des malignen Oedems.

1 Stamm.

Hitzeresistenzwert der Sporen in Hirnbrei natürlicher Reaktion 4 Minuten.
Hitzeresistenzwert der Sporen in Hirnbrei alkalischer Reaktion 4 Minuten.

Tabelle 6. Der Novysche Bazillus.

1 Stamm.

Hitzeresistenzwert der Sporen in Hirnbrei natürlicher Reaktion 60 Minuten.
Hitzeresistenzwert der Sporen in Hirnbrei alkalischer Reaktion 60 Minuten.

Tabelle 7. Der Fraenkelsche Gasbazillus.

43 Stämme.

Höchster Hitzeresistenzwert der Sporen in Hirnbrei alkalischer Reaktion 90 Minuten.

Niedrigster Hitzeresistenzwert der Sporen in Hirnbrei alkalischer Reaktion 8 Minuten.

Durchschnitt 19 Minuten.

---

[1]) Identisch mit dem sogen. Ghon-Sachsschen Bazillus. Warum der Bazillus „Rauschbrandbazillus Kitt“ heißen muß und nicht „Ghon-Sachscher Bazillus“, siehe Literaturangabe 5 u. 24.

[2]) Identisch mit v. Hiblers Art XI (?).

Tabelle 8. Der Tetanusbazillus.

2 Stämme.

Höchster Hitzeresistenzwert der Sporen in Hirnbrei natürlicher Reaktion 180 Minuten.

Niedrigster Hitzeresistenzwert der Sporen in Hirnbrei natürlicher Reaktion 150 Minuten.

Durchschnitt 165 Minuten.

Höchster Hitzeresistenzwert der Sporen in Hirnbrei alkalischer Reaktion 120 Minuten.

Niedrigster Hitzeresistenzwert der Sporen in Hirnbrei alkalischer Reaktion 120 Minuten.

Durchschnitt 120 Minuten.

Tabelle 9. Der Bacillus putrificus Bienstock.

2 Stämme.

Höchster Hitzeresistenzwert der Sporen in Hirnbrei natürlicher Reaktion 90 Minuten.

Niedrigster Hitzeresistenzwert der Sporen in Hirnbrei natürlicher Reaktion 90 Minuten.

Durchschnitt 90 Minuten.

Höchster Hitzeresistenzwert der Sporen in Hirnbrei alkalischer Reaktion 90 Minuten.

Niedrigster Hitzeresistenzwert der Sporen in Hirnbrei alkalischer Reaktion 90 Minuten.

Durchschnitt 90 Minuten.

Tabelle 10. Der Bacillus putrificus tenuis.

7 Stämme.

Höchster Hitzeresistenzwert der Sporen in Hirnbrei natürlicher Reaktion 150 Minuten.

Niedrigster Hitzeresistenzwert der Sporen in Hirnbrei natürlicher Reaktion 90 Minuten.

Durchschnitt 116 Minuten.

Höchster Hitzeresistenzwert der Sporen in Hirnbrei alkalischer Reaktion 120 Minuten.

Niedrigster Hitzeresistenzwert der Sporen in Hirnbrei alkalischer Reaktion 90 Minuten.

Durchschnitt 107 Minuten.

Tabelle 11. Der Bacillus putrificus verrucosus.

9 Stämme.

Höchster Hitzeresistenzwert der Sporen in Hirnbrei natürlicher Reaktion 120 Minuten.

Niedrigster Hitzeresistenzwert der Sporen in Hirnbrei natürlicher Reaktion 60 Minuten.

Durchschnitt 90 Minuten.

Höchster Hitzeresistenzwert der Sporen in Hirnbrei alkalischer Reaktion 120 Minuten.

Niedrigster Hitzeresistenzwert der Sporen in Hirnbrei alkalischer Reaktion 60 Minuten.

Durchschnitt 80 Minuten.

Inhalt.

Becker, Leopold, Vergleichende Untersuchungen über die Widerstandsfähigkeit von Anaërobensporen gegen Siedehitze in Hirnbreiröhrchen, S. 71.

Eisler, M., Ueber den Einfluß von Präzipitin auf Toxin-Antitoxinverbindungen, S. 46.

Fischer, Walther, u. Scheidemann, Hans, Klinisches und Histologisches über Hunde-Babesiose, S. 35.

Hintze, K., Ueber die Beeinflussung der Wa-R durch das Komplement infizierter Tiere, nebst Bemerkungen über den Co.-Gehalt des Meerschweinchenserums, S. 65.

Ihle, J. E. W., Hexodontostomum markusi n. gen., n. sp., eine neue Strongylide des Pferdes, S. 43.

Löwy, O., Beiträge zur Toxinentgiftung, S 61.

Otto, R., u. Papamarku, P., Weitere Beiträge zur experimentellen Fleckfieberinfektion des Meerschweinchens, S. 12.

Saul, E., Untersuchungen zur Aetiologie und Biologie der Tumoren. XXII. Mitteilung. (Condyloma acuminatum. — Verruca vulgaris. — Cholesteatom.), S. 20.

Schubert, Otto, Ueber Koloniebildung der Bakterien, S. 1.

Wauschkuhn, Fritz, Der Vorgang der Sporenbildung beim Milzbrandbazillus, S. 31.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 84. Heft 2.

Ausgegeben am 11. Februar 1920.

Nachdruck verboten.

Zur Frage der Auflösung von Tuberkelbazillen durch spezifische Immunstoffe[1]).

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Breslau (Direktor: Geheimrat Prof. Dr. R. Pfeiffer).]

Von Stabsarzt Dr. **Baatz,** früher kommandiert zum Institut.

Im Jahre 1912 veröffentlichten Kraus und Hofer Beobachtungen über die Auflösung von Tuberkelbazillen im tuberkulösen Organismus. Sie gingen bei Anstellung ihrer Versuche von dem Gedanken aus, daß die bisher gegen Tuberkelbazillen bekannten Antikörper, die Opsonine und Bakteriotropine, nicht zu einer befriedigenden Erklärung gewisser bei der Tuberkulose experimentell festgestellter Tatsachen ausreichen, und daß die von Wright gefundene Herabsetzung des opsonischen Index beim tuberkulösen Organismus die Tuberkulose in eine eigenartige Sonderstellung anderen Infektionskrankheiten gegenüber bringe, in deren Verlauf gewöhnlich eine Vermehrung der spezifischen Antikörper zustande kommt.

Kraus und Hofer suchten zunächst aufzuklären, worauf die Immunität des tuberkulösen Organismus einer Reinfektion gegenüber beruht. Sie infizierten zu diesem Zweck Meerschweinchen mit Tuberkelbazillen und stellten Versuche darüber an, ob bei peritonealer Reinfektion dieser Tiere Unterschiede gegenüber gesunden Meerschweinchen nachweisbar wären.

Die genannten Autoren behaupten, in der Tat wesentliche Unterschiede sowohl in der Zusammensetzung des Peritonealexsudates wie im Verhalten der Tuberkelbazillen gesehen zu haben. Sie beobachteten schon bei gesunden Tieren in den extrazellulär liegenden Bazillen Veränderungen, die gewöhnlich erst nach Ablauf von 1 Std. und mehr nach der Infektion sichtbar wären, blaue Körnchen im schwächer rot gefärbten Bazillenleib, „isolierte blaue Körnchen von derselben Größe, auch größere, intensiv blau gefärbte“, außerdem „hauptsächlich phagozytierte Bazillen“. Beim tuberkulösen Tier dagegen sehe man schon häufig nach 15—30 Min. „in den rot gefärbten Bazillen blau gefärbte Kügelchen auftreten, so daß die Tuberkelbazillen sehr ähnlich den Diphtheriebazillen werden. Die Kügelchen sind einzeln oder auch zu mehreren in den Bazillen vorhanden, dabei kann der Leib intensiv gefärbt sein, oder nur angedeutet rote Färbung aufweisen. Ein andermal sieht man ganz deformierte, wie Splitter aussehende, mit einer hellen Kapsel umgebene, rot gefärbte Bazillen“. Sehr häufig fände man nach 15 bis 30 Min. nur sehr wenig gut erhaltene Bazillen, dafür aber blaue Kügelchen von verschiedener Größe, die „lebhaft an die beim Pfeifferschen Peritonealversuch aufgelösten Choleravibrionen“ erinnern sollen.

Aus der geringen Zahl der Tuberkelbazillen im Vergleich zum Kontrollpräparat und dem Nachweis der erwähnten Körnchen in den Bazillenleibern wie in freiem Zustande zogen Kraus und Hofer den Schluß, daß eine Auflösung der Tuberkelbazillen stattgefunden habe, und daß „die spontanen Heilungsvorgänge bei Tuberkulose sowie die Immunitätsphänomene“ damit in Beziehung zu bringen seien. „Die nachgewiesene Immunität des tuberkulösen Organismus einer Reinfektion gegenüber dürfte sich demnach mit dem gesteigerten bakteriolytischen Vermögen desselben recht gut in Einklang bringen lassen. Der Tuberkulöse verfügt über mehr Bakteriolysine im Vergleich zum Gesunden, dagegen über weniger Opsonine und Bakteriotropine“. Später dehnten die genannten Autoren ihre Untersuchungen auch auf andere säurefeste Bakterien aus, und behaupteten, daß „durch Vorbehandlung mit säurefesten Bazillen ebenso spezifische Antikörper entstehen, wie durch Vorbehandlung mit Vibrionen“ und daß damit „eine biologische Methode zur Differenzierung säurefester Bakterien“ gefunden worden sei.

---

1) Sämtliche dieser Arbeit zugrunde liegenden Tierversuche und mikroskopischen Präparate sind 1913 und Anfang 1914 gemacht worden. Aus äußeren Gründen erfolgt die Veröffentlichung erst jetzt.

Diese Ergebnisse mußten um so mehr auffallen, als die Tuberkelbazillen durch ihr färberisches Verhalten, ihre Resistenz gegen Erhitzung, Desinfektionsmittel und andere schädigende Einflüsse eine Sonderstellung einnehmen. Trotzdem sind die interessanten Versuche von Kraus und Hofer nur von wenigen Forschern nachgeprüft worden.

Aehnliche Ergebnisse wie Kraus und Hofer scheinen Sivori und Constantini sowie v. Ruck gehabt zu haben. Nach den (nur im Referat zugänglichen) Veröffentlichungen dieser Autoren sollen antituberkulöse Sera sowohl in vitro wie in vivo Bakteriolyse der Tuberkelbazillen hervorrufen können.

Manwaring und Bronfenbrenner (Arbeit ebenfalls nur im Referat zugänglich) konnten in vitro zwar keine Bakteriolyse feststellen, beobachteten aber, daß intraperitoneal injizierte Tuberkelbazillen bei tuberkulösen Tieren rascher aus der Bauchhöhle verschwinden als bei gesunden Tieren. „Ein Teil der Bazillen“ verschwinde durch Lyse, wobei Umwandlung in nicht mehr säurefeste Granula eintrete.

Im Gegensatz zu diesen Arbeiten stehen die Ergebnisse von Arima und Sakuwara. Nach ihnen verschwindet der größte Teil der eingespritzten Tuberkelbazillen nicht nur in dem Peritonealexsudate der vorbehandelten Tiere, sondern auch in dem der nicht vorbehandelten schon nach wenigen Stunden. Es handelt sich hier aber um keine Bakteriolyse, sondern um einen Transport, der hauptsächlich durch das große Netz verrichtet wird.

Auf Veranlassung von Herrn Geheimrat Pfeiffer, dem ich auch an dieser Stelle meinen gehorsamsten Dank für die Anregung zu dieser Arbeit und für das ihr stets entgegengebrachte fördernde Interesse sowie für die Durchsicht der zahlreichen Präparate aussprechen zu dürfen bitte, unternahm ich es, die Untersuchungen von Kraus und Hofer zu wiederholen. Ich bediente mich derselben Versuchsanordnung, nur wurde die verwandte Menge von Tuberkelbazillen nicht, wie bei Kraus und Hofer, nach Oesen bestimmt, was mir bei der trockenen, bröckeligen Beschaffenheit von Tuberkelbazillenkulturen weniger geeignet erschien, sondern stets abgewogen, im sterilen Achatmörser möglichst fein verrieben und mit physiologischer Kochsalzlösung zu der gewünschten Konzentration aufgeschwemmt. Die zu den Versuchen benutzten Meerschweinchen waren durch subkutane Injektion tuberkelbazillenhaltigen Sputums, ein Teil auch mit Reinkultur vom Typus humanus oder bovinus an der rechten Brustseite infiziert worden. Nachdem die regionären Lymphdrüsen deutlich vergrößert waren, was in der Regel 3—4 Wochen dauerte, — nach dem Versuch wurde die tuberkulöse Erkrankung stets durch die Sektion und mikroskopische Untersuchung sichergestellt —, wurden einer Anzahl von ihnen und den entsprechenden Normalmeerschweinchen je 1, bzw. 2, bei einer 3. Gruppe $^1/_{10}$ mg einer etwa 3—4 Wochen alten Tuberkelbazillenkultur vom Typus humanus, einigen mit Rindertuberkelbazillen infizierten Meerschweinchen auch vom Typus bovinus, intraperitoneal injiziert. Die Kulturen waren zum Teil auf Glyzerinagar, meist auf dem im Institut gebräuchlichen Kartoffelnährboden mit Kalbsmilzbouillon gezüchtet worden. Wie bei dem Pfeifferschen Versuch, wurde sofort nach der Injektion und in Abständen von 10 oder 15 Min. den Versuchstieren etwas Exsudat aus der Bauchhöhle entnommen, auf neue, mit Alkohol-Aether gereinigte und entfettete Deckgläschen ausgestrichen und nach Ziehl-Neelsen, bei 2 Versuchen auch nach Much-Weiss gefärbt, außerdem bei einer Anzahl von Tieren das Exsudat im hängenden Tropfen untersucht. Hierbei zeigte sich folgender Unterschied zwischen dem Exsudat des normalen und tuberkulösen Tieres, den auch Kraus und Hofer beschreiben: das Exsudat, das gleich nach der Injektion zellarm war und reichlich freie Tuberkelbazillen enthielt, wies bei dem normalen Tier überwiegend polynukleäre Leukozyten mit zunehmender Phagozytose auf.

Bei dem tuberkulösen Tier war die Zahl der Lymphozyten und großen Mononukleären größer, die Phagozytose schien schwächer, das Exsudat im ganzen innerhalb der 1. Stunde zellreicher als bei dem normalen Tier. Später, nach Ablauf von 90 Min. und mehr nach der Injektion, nimmt bei beiden Tieren die Zahl der polynukleären Leukozyten erheblich zu, bei dem tuberkulösen Tier bleibt aber die Zahl der einkernigen Zellen neben Uebergangsformen und Endothelzellen größer als bei dem normalen. Untersucht man das Exsudat etwa nach 8 Std., so fällt bei dem tuberkulösen Tier seine schleimige, fadenziehende Beschaffenheit auf, was bei dem vom normalen Tier stammenden Exsudat gar nicht oder doch in viel geringerem Grade zu beobachten ist. In dem Verhalten der Tuberkelbazillen dagegen ließen sich nach Aussehen und Färbbarkeit keine eindeutigen Unterschiede feststellen, auch nicht bei Beobachtung im hängenden Tropfen, und ebensowenig bei der Färbung nach Much-Weiss. Bei allen Tieren waren auch in dem Exsudate, das nach 2 Std. und darüber entnommen worden war, wohlerhaltene Tuberkelbazillen nachzuweisen. Die Formen, die Kraus und Hofer beschreiben, blaue Kügelchen in den rotgefärbten Bazillen, diphtheriebazillenähnliche Gebilde und dergleichen, wurden nie wahrgenommen.

Es war von vornherein nötig, die Untersuchung nicht auf die Peritonealflüssigkeit zu beschränken, sondern auch das Verhalten des Bauchhöhlenendothels, besonders im Netz, zu studieren.

Ein Vorversuch ergab, daß die beobachteten Unterschiede im Vorkommen der zelligen Elemente in entsprechender Weise auftreten, wenn an Stelle der Tuberkelbazillenaufschwemmung reine Bouillon eingespritzt wurde.

Auch nach Injektion steriler Bouillon waren bei dem tuberkulösen Tier die mononukleären Leukozyten erheblich stärker vertreten als bei dem normalen. Es handelt sich mithin nicht um eine spezifische Reaktion, die etwa nur nach Injektion von Tuberkelbazillen oder deren Stoffwechselprodukten eintritt, sondern um einen grundsätzlichen Unterschied im biologischen Verhalten der Bauchhöhle zwischen dem gesunden und dem tuberkulösen Meerschweinchen.

Es kam nun darauf an, festzustellen, was beim tuberkulösen Tier aus den intraperitoneal eingespritzten Tuberkelbazillen wurde. Es lag nahe, anzunehmen, daß sie in das Netz aufgenommen worden waren, dessen Bedeutung bei pathologischen Prozessen in der Bauchhöhle u. a. durch die Untersuchungen von Marchand, Goldmann, Josef Koch bekannt ist. Josef Koch hat an den verschiedensten Tierarten, ganz besonders aber bei Meerschweinchen bewiesen, daß alle in die Bauchhöhle gebrachten korpuskulären Elemente und auch Bakterien zum größten Teil durch das große Netz entfernt werden. Da es ihm darauf ankam, „zunächst einmal den reinen Resorptionsvorgang eines Bakteriums, das sich der bakteriziden Tätigkeit der freien Peritonealflüssigkeit gegenüber resistent erwies, kennen zu lernen“, benutzte er gerade Tuberkelbazillen, die er auch im Gewebe des Netzes, besonders in den Lymphknötchen, in großen Mengen nachweisen konnte.

Regelmäßig fiel mir bei der Sektion der Meerschweinchen auf, daß das Netz der tuberkulösen Tiere anders aussah als das normaler. Obwohl die infizierten Meerschweinchen in einem Stadium zu den Versuchen benutzt wurden, wo noch keine Tuberkulose des Netzes makroskopisch und mikroskopisch — Untersuchung von Schnitten — nachweisbar war, war das Netz bei ihnen im ganzen gequollener, zellreicher als bei gesunden Tieren, und es ist wohl wahrscheinlich, daß die größte Zahl der mononukleären Zellen, besonders der Makrophagen, in dem von tuberkulösen Tieren gewonnenen Exsudat aus dem Netz stammt. Weidenreich bespricht in seinem Referat „Die Leukozyten und verwandte Zellformen“ u. a. eine Arbeit von Schott, der im entzündlichen Exsudat, das durch verschiedene Reize aufgelöst worden war, das rasche Auftreten von Makrophagen beobachtete. „Die Prüfung des Netzes ergab, daß alle Netzzellen, Deckzellen und Bindegewebszellen, zwischen denen, in Uebereinstimmung mit den Angaben Cornils, Ranviers und Dominicis, keine morphologischen Unterschiede festgestellt wurden — sich abrunden, loslösen und zu Makrophagen werden können.“ „Das Netz schafft Ersatz durch mitotische Teilung der im Verband gebliebenen Elemente, andererseits teilen sich aber auch die freigewordenen Elemente mitotisch weiter und gehen dabei in kleine Lymphozyten über, mit denen sie so durch kontinuierliche Uebergänge verbunden erscheinen.“

Wenn das Netz nun schon infolge eines pathologischen Prozesses in der Bauchhöhle hyperplastisch ist, ohne selbst bereits tuberkulöse Veränderungen aufzuweisen, so ist es begreiflich, daß mononukleäre Zellen in allen Größen sowie reichlicher und schneller im Exsudat anzutreffen sind als bei gesunden Tieren.

Weidenreich spricht in dem erwähnten Referat weiter die Ansicht aus, „daß bei fortgesetzten oder bestimmten Reizen die Reaktion der Blutelemente erlischt, ausbleibt oder wenigstens stark zurücktritt, und daß dafür die Exsudatzellenbildung autochthon vor sich geht durch Gewebsproliferation und mitotische Teilung, wodurch große Zellen — Makrophagen (große ungranulierte Blut- und Lymphzellen) — und kleine Lymphozyten geliefert werden, daneben auch unter Umständen eosinophile Leukozyten. Damit fände auch die bekannte Beobachtung, wonach gerade bei manchen chronischen pathologischen Prozessen die „mononukleären“ Leukozyten und Lymphozyten das vorherrschende Element sind, eine befriedigende Erklärung.“

Was das schnellere Verschwinden der injizierten Tuberkelbazillen aus dem freien Exsudat bei tuberkulösen Tieren anbelangt, so halte ich es für wohl möglich, daß ein zellreicheres, voluminöseres Gewebe stärker adsorbierend wirkt als ein zellarmes, zartes.

Daß diese Wirkung unspezifisch ist, mit keinen Tuberkelbazillenantikörpern zusammenhängt, wird dadurch wahrscheinlich gemacht, daß bei gleichzeitiger Injektion von Tuberkelbazillen und Karminkörnchen Bakterien wie Farbstoffkörnchen in gleicher Weise im Netz wiederzufinden waren.

Wenn nun bei den hier beschriebenen Versuchen in der Peritonealhöhle der tuberkulösen Tiere wirklich eine Auflösung der injizierten Tuberkelbazillen erfolgt wäre, hätte man mit Sicherheit bei Durchmusterung von Schnitten einen Unterschied zwischen gesundem und infiziertem Tier finden müssen. Eine Anzahl von normalen und tuberkulösen Meerschweinchen wurde daher mit einer Aufschwemmung von je 2, bzw. 4 mg Tuberkelbazillenkultur intraperitoneal gespritzt und 30, 60, 90, 120 Min. 4, 6 und 24 Std. danach getötet, worauf das große Netz sofort herauspräpariert, in Alkohol gehärtet, in Paraffin eingebettet und dann in gefärbten Schnittpräparaten untersucht wurde. Bei einer weiteren Tierreihe wurde der gleiche Versuch mit Injektion von nur je $^1/_{10}$ mg Tuberkelbazillenkultur ausgeführt, um auch etwaige feinste Unterschiede in der Bakterizidie zwischen gesunden und tuberkulösen Tieren aufzudecken. Bei der Untersuchung der Schnittpräparate ergab sich, daß in den Zellen und Lymphgefäßen des Netzes, mochte es von gesunden oder tuberkulösen Tieren stammen, stets in großer Menge und dem Augenschein nach gleicher Anzahl wohlerhaltene, gut färbbare Tuberkelbazillen vorhanden waren.

Kraus und Hofer suchten auch weiter nachzuweisen, daß das Serum der tuberkulösen Tiere die Fähigkeit besitzt, „Tuberkelbazillen im Peritoneum gesunder Meerschweinchen stärker zu lösen, als das Serum gesunder“. Sie spritzten zusammen mit Tuberkelbazillen Serum tuberkulöser Meerschweinchen oder tuberkulöser Menschen normalen Meerschweinchen in die Bauchhöhle; den Kontrolltieren wurden entsprechende Mengen von Tuberkelbazillen und Serum gesunder Meerschweinchen bzw. Menschen injiziert. Nach den mitgeteilten Protokollen enthielt das Exsudat der Kontrolltiere im allgemeinen mehr wohlerhaltene Tuberkelbazillen bei stärkerer Phagozytose als das Exsudat der Tiere, die Serum tuberkulöser Individuen erhalten hatten. In der Arbeit von Kraus und Hofer sind die Protokolle über 4 Kontrollen veröffentlicht, bei dreien wird auch über das Auftreten von „Kügelchen“ berichtet, 1mal (Kontrolltier 625) sogar in reichlicher Anzahl. Es wird daher auch nur von einem graduellen Unterschied gesprochen. Auch bei Nachprüfung dieser Angaben erwies sich die Methode der Schnittfärbung der alleinigen Untersuchung von Ausstrichpräparaten überlegen. Die Versuche wurden in der Weise angestellt, daß immer von 3 Meerschweinchen eins 1 ccm der Tuberkelbazillenaufschwemmung + 1 ccm Kochsalzlösung, das zweite 1 ccm der Bazillenaufschwemmung + 1 ccm einer Serumverdünnung 1 : 10 (Serum von einem gesunden Meerschweinchen), das dritte 1 ccm der Bazillenaufschwemmung + 1 ccm einer Serumverdünnung 1 : 10 (Serum eines sicher tuberkulösen Meerschweinchens) gemischt intraperitoneal erhielt. Das Netz wurde 30, 60, 90, 120 Min., 4, 6 und 24 Std. nach der Injektion herausgenommen und ebenso behandelt wie bei den oben beschriebenen Versuchen. Zu den Versuchen wurden frische, aktive Sera verwandt. Es erschien mir zweckmäßig, neben dem Normalserum als Kontrolle auch Kochsalzlösung + Bazillenaufschwemmung zu injizieren, um über die etwa vorhandenen bakteriziden Kräfte des Normalserums Tuberkelbazillen gegenüber ein Urteil zu gewinnen. Die Tuberkelbazillenaufschwemmungen waren so hergestellt, daß bei einer Reihe von Versuchen jeder Kubikzentimeter 2 mg Kultur, bei einer anderen Reihe 4 mg und bei einer 3. Reihe $^1/_{10}$ mg Kultur enthielt. Auch bei diesen Versuchen, die an 12 Gruppen = 36 Meerschweinchen angestellt wurden, ließ sich nicht der geringste Unterschied im Verhalten der Tuberkelbazillen feststellen; die mit Serum tuberkulöser Tiere gespritzten Meerschweinchen zeigten in Schnitten vom Netz genau so zahlreiche und wohlerhaltene Tuberkelbazillen, oft in großen Haufen, wie die mit Normalserum oder Kochsalzlösung injizierten Tiere. Von der Untersuchung der Bauchhöhlenflüssigkeit wurde Abstand genommen, da mit der Durchmusterung des Netzes auf Schnitten eindeutigere Ergebnisse erzielt worden waren.

Wenn dem Serum tuberkulöser Tiere eine nennenswerte bakterizide Kraft innewohnt, dürfte auch eine Schutzwirkung dieses Serums zu erwarten sein in dem Sinne, daß die damit behandelten Tiere nicht an

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Tuberkulose erkranken, oder zum mindesten der Infektion länger Widerstand leisten können als die Kontrolltiere. Zur Klärung dieser Frage wurde eine Reihe von Meerschweinchen am Leben gelassen; über die Anordnung dieses Versuches und dessen Ergebnis gibt folgende Tabelle Auskunft:

Tabelle I.

Versuch vom 24. Febr. 1914.

No. des Tieres	Gewicht	Tuberkelbazillenaufschwemmung (Typus humanus) 1 ccm = 4 mg	Gemischt mit	Tag des Todes	Obduktionsbefund	Tuberkelbazillen mikroskopisch nachgewiesen (Milzausstrich)
166	295 g	1 ccm	1 ccm NaCl	21. März 14	Allgemeine Tuberkulose	+
167	320 „	dgl.	dgl	23. März 14	dgl.	+
168	300 „	„	1 ccm Normalmeerschweinchenserum 1:10	28. März 14	„	+
169	280 „	„	dgl.	21. März 14	„	+
170	250 „	„	1 ccm Serum 1:10 eines nachgewiesenen tuberkulös. Meerschweinchens	21. März 14	„	+
171	365 „	„	dgl.	6. April 14	„	+

Hierbei (Tab. I) fällt die große Dosis der injizierten Tuberkelbazillen auf. Es handelte sich aber um einen alten, wenig virulenten Sammlungsstamm Typus humanus, von dem 2 mg nicht sicher töteten.

Gleichwohl wurde der Versuch mit kleineren Dosen — es wurden 0,5 mg eines anderen Sammlungsstammes verwandt — und gleichzeitig auch mit Tuberkelbazillen des Typus bovinus wiederholt.

Eine bemerkenswerte Schutzwirkung der von tuberkulösen Meerschweinchen stammenden Sera war mithin nicht zu erkennen, die Infektion nahm im großen und ganzen bei allen Tieren den gleichen Verlauf. Dieses negative Ergebnis stimmt mit den Erfahrungen Loewensteins überein, der das Serum immunisierter Ziegen, das einen Agglutinationstiter von 1:5000 hatte, prüfte, ohne irgendeine Schutzwirkung, im besonderen eine Bakterizidie, zu erzielen. Zu ähnlichen Ergebnissen kommt Römer auf Grund seiner Versuche, bei denen das Serum seiner am stärksten immunisierten Schafe selbst in der Dosis von 5 ccm noch nicht einmal die tuberkuloseerzeugende Minimaldosis schwachvirulenter Menschentuberkelbazillen in ihrer krankmachenden Wirkung abzuschwächen vermochte. Römer rechnet mit der Möglichkeit, daß „die rasche Ausscheidung des artfremden Schafserums die Schuld am Mißerfolg haben“ könne, gibt aber zu, daß auch unter Verwendung homologen spezifischen Serums, wie in den Versuchen von v. Baumgarten am Rinde, die Ergebnisse „recht unsichere und ungleichmäßige“ waren.

Auf Grund meiner Versuche ziehe ich den Schluß, daß eine spezifische Auflösung von Tuberkelbazillen im tuberkulösen Organismus in gesetzmäßiger Weise, wie bei dem klassischen Pfeifferschen Versuch, nicht stattfindet, daß also auch die von Kraus und Hofer angegebene biologische

Tabelle II.

Versuch vom 15. April 1914.

No. der Tieres	Gewicht	Tuberkelbazillenaufschwemmung (Typus humanus) 0,5 ccm = 0,5 mg	Gemischt mit	Tag des Todes	Obduktionsbefund	Tuberkelbazillen mikroskop. nachgewiesen im Milzausstrich
			A.			
40	225 g	0,5 ccm	0,5 ccm NaCl	11. Mai 14	Allgemeine Tuberkulose	+
43	240 „	dgl.	dgl.	19. „ 14	dgl.	+
45	240 „	„	0,5 ccm Normalmeerschweinchenserum 1 : 10	11. „ 14	„	+
46	240 „	„	dgl.	4. „ 14	„	+
48	240 „	„	0,5 ccm Serum 1 : 10 eines nachgewiesen tuberkulösen Meerschweinchens [1])	13. „ 14	„	+
49	230 „	„	dgl. [1])	1. „ 14	Pneumonie	—
			B.			
42	295 g	Tuberkelbazillenaufschwemmung Typ. bovinus 0,5 ccm = 0,5 mg	0,5 ccm NaCl	14. Mai 14	Allgemeine Tuberkulose	+
51	290 „	dgl.	dgl.	13. „ 14	dgl.	+
41	290 „	0,5 ccm	0,5 ccm Normalmeerschweinchenserum 1 : 10	13. „ 14	„	+
44	260 „	dgl.	dgl.	11. „ 14	„	+
47	285 „	„	0,5 ccm Serum 1 : 10 eines nachgewiesen tuberkulösen Meerschweinchens [2])	18. „ 14	„	+
50	280 „	„	dgl. [2])	11. „ 14	„	+

Methode zur Differenzierung säurefester Bakterien nicht anwendbar ist, und daß die Bedeutung der Bakteriolyse bei der Tuberkuloseimmunität bisher nicht erwiesen ist.

Literatur.

Arima u. **Sakuwara**, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 72. 1914. S. 389.

Koch, Josef, Die Bedeutung und Tätigkeit des großen Netzes bei der peritonealen Infektion. (Zeitschr. f. Hyg. 1911. Bd. 69.)

Kraus u. **Hofer**, Ueber die Auflösung von Tuberkelbazillen im tuberkulösen Organismus. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 54. 1912.)

— — Ueber Auflösung der Tuberkelbazillen und anderen säurefesten Bakterien im Organismus. (Wien. klin. Wochenschr. 1912. No. 29.)

Kraus, **Hofer** u. **Ishiwara**, Ueber Differenzierung von Leprabazillen mittels Bakteriolyse. (Wien. klin. Wochenschr. 1913. No. 9.)

Loewenstein, Tuberkuloseimmunität. (Handb. d. pathog. Mikroorganism. v. **Kolle-Wassermann**. 2. Aufl. Bd. 5.)

Marchand, Ueber die bei Entzündungen in der Peritonealhöhle auftretenden Zellformen. (Verhandl. d. Deutsch. pathol. Gesellsch. 1898, 1901, 1913.)

---

1) Infiziert mit Typus humanus.
2) Infiziert mit Typus bovinus.

Manwaring u. Bronfenbrenner, Journ. Exper. Med. Vol. 18. 1913, p. 601; Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 61. S. 375.)

Römer, Tuberkulosevakzin. (Handb. d. Techn. u. Method. d. Immunitätsf. v. Kraus-Levaditi. Erg.-Bd. 1.)

v. Ruck, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 58. 1913. S. 244 u. Beitr. z. Klin. d. Tuberk. Bd. 27. 1913. S. 353.)

Sivori u. Constantini, Ann. dell' Instit. Maragliano. T. 6. 1912. p. 249. — Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 58. 1913. S. 472.)

Weidenreich, Die Leukozyten und verwandte Zellformen. (Ergebn. d. Anat. u. Entwicklungsgesch. v. Merkel u. Bonnet. Bd. 19, 2. 1909.)

Nachdruck verboten.

Zur Aetiologie der spanischen Grippe.

Von Dr. **C. J. C. van Hoogenhuijze,**

Bakteriolog. Serolog, stellvertretendem Direktor des Städtischen Gesundheitsamtes in Amsterdam (Direktor: Dr. H. G. Ringeling).

Mit 5 Figuren im Text.

Das von Pfeiffer¹) 1891 entdeckte hämoglobinophile Stäbchen wurde damals als der Erreger der Influenza anerkannt. Allmählich erhoben sich gegen diese Auffassung gewisse Bedenken, und groß ist die Literatur pro und contra über diesen Bazillus. In der jüngsten Grippeepidemie, welche so viel Gleiches mit der Influenza zeigte, wurde natürlich von zahlreichen Untersuchern die Aetiologie dieser Krankheit erforscht, und das Resultat war, daß durchaus nicht immer die Pfeifferschen Bazillen gefunden wurden, sondern sehr oft andere Organismen, wie Pneumokokken, Streptokokken, Diplo-Streptokokken usw. Auch jetzt gehen wieder die Ansichten pro und contra über diesen Bazillus als Erreger der Krankheit auseinander, wie aus zahlreichen Publikationen hervorgeht.

Der Kürze halber will ich hierauf nicht weiter eingehen. Versuche an Menschen mit den Influenzabazillen, um die ätiologische Bedeutung eindeutig zu sichern, gibt es nicht. In der Literatur existiert bisher nur ein unfreiwilliger Versuch in dieser Richtung: Kretz²) zerbrach beim Arbeiten mit Influenza eine Kultur und erkrankte nach 24 Std. Inkubationszeit an einer typischen Influenza, an der er 2 Monate darniederlag.

Dagegen haben diejenigen, welche die Lösung dieser ätiologischen Frage in der Richtung des filtrierbaren oder unsichtbaren Virus suchten, wohl Versuche an Menschen gemacht, aber die Resultate waren nicht derart, daß ohne weiteres ein solches Virus als der Erreger anerkannt werden kann

Selter³) filtrierte Gurgelwasser frisch Erkrankter und Kochsalzwasser, in dem ein Abstrich der hinteren Rachenwand dieser Pat. ausgeschüttelt war, durch ein Berkefeld-Filter. Er selber und eine sich zur Verfügung stellende Laborantin inhalierten das versprayte Filtrat. Beide wurden ein wenig krank. Die geschilderten Symptome sind aber keineswegs Zeichen eines typischen Influenzaanfalles und diese 2 Versuche darum auch nicht sehr beweisend. Nicolle und Lebailly⁴) konnten bei einem Menschen durch subkutane Injektion des filtrierten Bronchialsekretes die Krankheit erzeugen. Intravenöse Injektion von filtriertem Blute bei einem Menschen hatte keinen Erfolg. Dieses gelang dagegen wohl Dujarric de la Rivière⁵). Er konnte damit im Selbstversuch Immunität gegen eine Infektion der Nasen- und Pharynxschleimhaut mit Material von Grippekranken bekommen.

---

1) R. Pfeiffer, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 13. 1893. H. 5. S. 357.
2) Kretz, Wien. klin. Wochenschr. 1897.
3) Selter, Deutsch. med. Wochenschr. 1918. No. 34.
4) Nicolle u. Lebailly, Presse méd. Oct. 1918.
5) Dujarric de la Rivière, Compt. rend. Acad. des sc. 21. Oct. 1918.

Gibson, Bowman und **Connor**[1]) konnten Affen krank machen mittels Inokulation des filtrierten Virus unter die Conjunctiva und Infektion der Nasenlöcher mit dem filtrierten Virus.

v. Angerer[2]) beschreibt sehr kleine Partikelchen, welche er im Blut und Lungensaft gestorbener Grippekranken gefunden hatte und im Blute weißer Ratten, die mit Grippesputum geimpft waren, und welche er färben und weiter in Traubenzuckerbouillon kultivieren konnte. Nach dieser Methode **v. Angerers** konnten auch **Binder** und **Prell**[3]) ihre kleinen Granula, welche sie in Lungenschnitten gefunden hatten und welche sie Aenigmoplasma nannten, kultivieren. Impfversuche wurden nicht gemacht. Man muß aber bei der Beurteilung solcher Granula sehr vorsichtig sein, wie es schon aus den Versuchen **Huntemüllers**[4]) hervorgeht, der bei seinen Untersuchungen über Pockenvirus derartige Granula beschreibt, welche seiner Meinung nach möglicherweise Kolloidgranula sind.

Von **Bradford**[5]), **Bashford**[6]) und **Wilson**[7]) wurden aus Blut und Sputum Influenzakranker filtrierbare Organismen, die sehr klein und kokkenähnlich waren, und nach dem Tode auch aus Lungen, Drüsen, Herz, Leber, Milz, Nieren kultiviert. Sie sind streng anaërob. Es gelang ihnen, bei Affen, Meerschweinchen und Kaninchen eine Krankheit hervorzurufen, welche post mortem dieselben Aenderungen wie bei Influenza darbot.

Wenn auch diese Versuche für einen filtrierbaren Erreger der Spanischen Krankheit zu sprechen scheinen, liefern doch die schönen Versuche **Friedbergers** und **Konitzers**[8]) in größerem Maßstabe und in mannigfach veränderter Form keine Stütze dafür. Diese Untersucher haben in 35 Versuchen 26 Versuchspersonen, darunter 15 Mediziner, die sich dazu zur Verfügung stellten, durch Kerzen filtriertes Sputum frischer und älterer Grippefälle, sowie filtrierten Lungensaft und filtriertes Exsudat, frisch Verstorbener nach vorheriger Sterilitätsprüfung inhalieren lassen. Das Material wurde mittels eines Sprayapparates in Mengen von mindestens $^1/_2$ ccm in den Rachen der Versuchsperson hinein versprayt. 7 der letzteren wurden 2mal (1 Woche Zwischenraum), eine 5mal dem Spray ausgesetzt. 2 der Aerzte, die mit diesen Versuchen beschäftigt waren, und eine Krankenschwester haben dabei mehrmals während der ganzen Dauer des Versuches sich in dem Raume aufgehalten und dabei natürlich reichlich versprengtes Material inhalieren müssen. In keinem dieser Fälle trat bei täglich 2-maliger Messung in der Folgezeit Fieber auf. Einige hatten längere Zeit vorher Influenza gehabt, andere stellten dies bestimmt in Abrede.

Auch **Kruse** (Diskussionsbemerkung. München. med. Wochenschr. 1918. S. 1228) hatte nur negative Resultate mit filtrierter Nasenspülflüssigkeit aus einem Influenzafall bei einigen seiner Hörer.

In Oktober 1918 hatte ich meine Versuche begonnen und dabei zuerst meine Aufmerksamkeit dem Blute gewidmet. Obwohl die Erfahrung anderer Forscher nicht sehr ermutigend war, habe ich es doch wieder probiert, weil die schnelle Verbreitung der Krankheit im Körper, das alsbaldige Allgemeinkranksein, eine Annahme eines Virus im Blute sehr wahrscheinlich macht. In der Tat konnte ich einen eigenartigen Organismus kultivieren, welchen ich hier beschreiben will, obgleich auch ich, ebensowenig wie die anderen Untersucher habe beweisen können, daß die Bazillen die Erreger der Krankheit sind. Die Bazillen sind nämlich nicht pathogen für die Laboratoriumstiere, und ich konnte mich nicht zu Versuchen an Menschen entschließen.

Mit den Versuchen an Tieren bin ich noch beschäftigt, aber wegen Mangels an Laboratoriumstieren geht das nicht schnell.

Im ganzen konnte ich das Blut von 37 Grippekranken untersuchen, und außerdem das Blut eines dieser Kranken, nachdem er genesen war, und eines am 1. Tage eines Rezidives.

Die ganze Untersuchung habe ich mit meinen Assistenten, den Damen **Veenhoven** und **Bletz**, gemacht.

---

1) **Gibson, Bowman** u. **Connor**, Brit. med. Journ. Oct. 1918.
2) **v. Angerer**, Münch. med. Wochenschr. 1918. No. 46.
3) **Binder** u. **Prell**, Münch. med. Wochenschr. 1908. No. 50 u. 52.
4) **Huntemüller**, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 79. 1916. H. 1.
5), 6), 7) **Bradford, Bashford** u. **Wilson**, Brit. med. Journ. 17 May. 1919.
8) **Friedberger** u. **Konitzer**, Med. Klin. 1919. No. 5.

Das Grippematerial bestand aus folgenden Patienten:

3 Grippen ohne Komplikation (alle am 2. Krankheitstage untersucht),
1 Grippe mit Pneumonie,
3 Grippen zum Teil mit, zum Teil ohne Bronchitis,
14 Grippepneumonien, zum Teil mit, zum Teil ohne Pleuritis sicca,
8 Grippepneumonien mit Pleuritis exsud.,
5 Grippepneumonien mit Empyem,
1 Grippe mit Pneumonia gangraenosa,
2 Grippen mit Encephalitis.

Außerdem konnte ich Obduktionsmaterial einiger dieser Pat. untersuchen.

Kollege **de Kleyn** (Utrecht) war so freundlich, mir Material zur Untersuchung zu schicken, das er bei 6 Patienten bei einer Ohrenoperation bekommen hatte.

Mittels Punktion wurde das Blut unter aseptischen Kautelen aus einer Armvene genommen und sofort in einem **Erlenmeyer**-Kolben mit Perlchen defibriniert.

Das defibrinierte Blut wurde auf Agar und auf **Loeffler**sches Serum, in saure und alkalische Bouillon, in Glukosebouillon, in Peptonwasser, in physiologische Kochsalzlösung und in destilliertes Wasser geimpft und aërob und anaërob kultiviert.

Da es möglich wäre, daß sich im Serum der Pat. event. entwicklungshemmende Stoffe befanden, habe ich das defibrinierte Blut zentrifugiert, die roten Blutkörperchen mit physiolog. Kochsalzlösung gewaschen und diese wieder auf und in alle obengenannte Böden geimpft. In der Erwägung, daß das Blut der Pat. selbst möglicherweise die besten Wachstumsbedingungen für die sich im Blut befindenden Organismen bieten würde, habe ich sowohl mit dem defibrinierten Blute wie mit den gewaschenen roten Blutkörperchen Blutagarplatten gegossen (im Verhältnis von $^1/_2$ ccm Blut und 7 ccm Agar) und auf diese wieder das Blut und die Blutkörperchen geimpft. Ebenso habe ich mit dem Serum Agarplatten gegossen im Verhältnis von $^1/_2$ ccm Blut und 7 ccm Agar und auf diese wieder das Blut und die Blutkörperchen geimpft. Ebenso habe ich mit dem Serum Agarplatten gegossen und auf diese alles geimpft, auch das Serum, und zum Schluß habe ich alles geimpft auf Blutagarplatten vom Blut gesunder Personen und von Schafblut mit Glukose.

Das Resultat war, daß alle Böden, ausgenommen die Blutböden, vom Blute der Pat. selbst steril geblieben waren (zu gleicher Zeit eine Kontrolle auf steriles Arbeiten) und daß es nahezu keinen Unterschied machte, ob ich dabei das ganze defibrinierte Blut oder nur die gewaschenen Blutkörperchen benutzte.

Auf diesen Böden und in einzelnen Fällen auch auf den **Loeffler**schen Serumplatten wurden ganz kleine Kolonien gefunden, welche undeutlich auf diesem roten Untergrund zu unterscheiden waren und deshalb auch ihrer Kleinheit wegen fast nicht zu sehen waren.

Die Kolonien bestanden aus kleinen, ziemlich dicken Bazillen, welche hier und da Körnchen zeigten oder septiert aussahen (Fig. 1). Diese waren gramnegativ, unbeweglich und leicht mit den bräuchlichen Farbstoffen färbbar. Zweimal in 37 Fällen wurden zahlreiche Kokkenkolonien gefunden; eine Verunreinigung hatte also stattgefunden, was ich schon bei der Blutentnahme befürchtete. Nach anderen Organismen wurde hier nicht gesucht. Bei den 35 anderen Pat. konnten 33mal die obengenannten Bazillen nachgewiesen werden; 2mal war alles steril geblieben; bei denjenigen der 33 Pat., deren Blut nach der Genesung untersucht werden konnte, wurde nichts gefunden, wohl dagegen bei demjenigen, der ein Rezidiv bekam.

Ueberimpfung auf gewöhnlichen Agar gelang nicht, dagegen wohl, wenn zuerst auf **Loeffler**sches Serum (Fig. 2) und nachher auf Agar geimpft wurde. Von Agar auf Agar konnte dann übergeimpft werden.

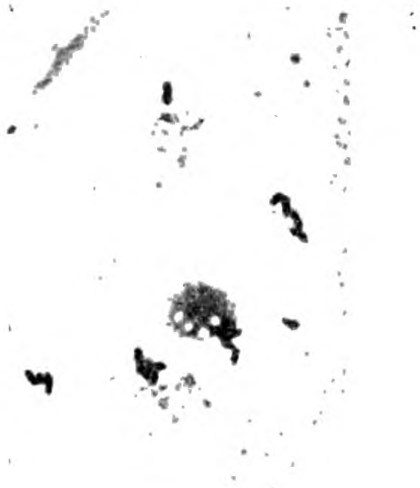


Fig. 1.

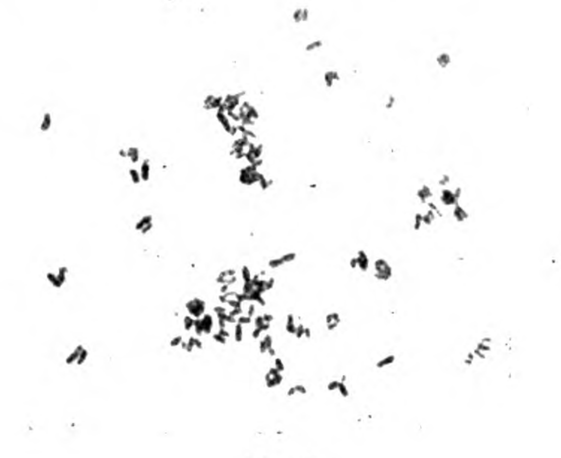


Fig. 2.

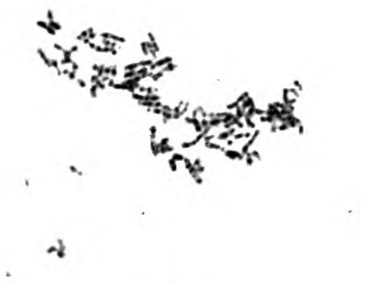


Fig. 3.

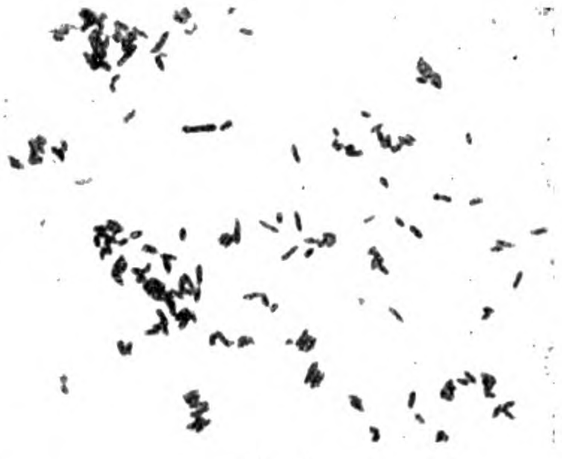


Fig. 4.

Auch dieses gelang nicht immer, vielleicht weil die Bazillen so leicht abstarben. Nach dieser Ueberimpfung fand eine Formänderung der Bazillen statt. Zuerst vermehrte sich die Septierung (oder vielleicht Körnchenbildung) und wurde deutlicher (Fig. 3), aber, je nachdem das Wachstum auf Agar besser gelang, minderte sich das wieder, um danach konstant zu bleiben, und wieder das erste Bild, wie auf dem Blutagar (Fig. 4), zu zeigen.

Im übrigen waren keine Aenderungen zu bemerken: Unbeweglichkeit, keine Sporenbildung, keine Säurebildung, keine Gärung der verschiedenen Zuckerarten, keine Indolbildung, keine Aenderung der Milch. Die **Gram**sche Färbung war negativ, aber dies war nicht konstant; in

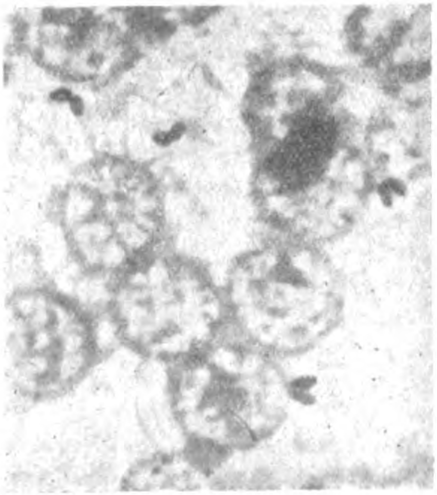


Fig. 5.

den älteren Kulturen gab es überwiegend grampositive Färbung. Bei Zimmertemperatur gab es kein Wachstum. Die Bazillen gehen schnell zugrunde und werden leicht überwuchert. Sie zeigten also nicht nur Formänderungen, sondern waren auch der Gramschen Färbung gegenüber nicht konstant. Dieselben Befunde hatte ich bei allen Kulturen, welche ich bekommen hatte.

Sehr merkwürdig war der ganz zufällige Befund, welchen ich machte, indem ich zwecks Tierversuche meine Bazillen in Blut gesunder Personen mit ein wenig Bouillon geimpft hatte, ebenso in mittels fraktionierten Sterilisierens bei 56° C sterilisiertem Speichel. Nach 2mal 24 Std. sah ich in diesen Kulturen massenhaft bipolar gefärbte Bazillen (Fig. 5) auftreten, welche Pestbazillen ganz ähnlich sahen, aber viel kleiner als diese waren. Nach längerer Züchtung verschwand diese Form zum größten Teil wieder und trat dieselbe Form wieder auf. Sie ähnelten sehr den Bazillen, die man oft im Sputum Grippekranker findet.

Im Anfang der 2. Epidemie wurde hier und da an Lungenpest gedacht, und es war auch meine Aufgabe, zur Beruhigung des Publikums speziell nach der Art der pestähnlichen (bipolar gefärbten) Bazillen im Sputum der Pat. zu forschen. Es gelang mir via Blutagars, eine Reinkultur dieser Bazilien zu bekommen. Leider habe ich, nachdem ich zeigen konnte, daß es gar keine Pestbazillen waren, die Kulturen weggeworfen, in der Meinung, daß es nichts Besonderes war, so daß ich sie nicht mit meinen Bazillen vergleichen konnte. Da obengenannter, zufälliger Befund am Ende der Epidemie von mir gemacht worden war, war es mir nicht mehr möglich, Sputum mit diesen Bazillen zu bekommen. Dieselbe Beobachtung, nämlich die Aenderung in pestähnliche Bazillen, wurde auch von anderen Untersuchern gemeldet.

Fromme[1]) z. B. sagt: „Aufgefallen ist mir eine gewisse Neigung zur Bildung von Involutionsformen. In älteren Reinkulturen zeigen sich auch Individuen mit Polfärbung und Ringformen, so daß man an Bilder von Reinkulturen von Pestbazillen erinnert wird, nur sind die Individuen viel kleiner als diese.“ Obwohl meine Bazillen, wie aus meiner Beschreibung hervorgeht, in manchen Beziehungen nicht dem Pfeifferschen Bazillus ähnlich sind, geben doch obengenannte Mitteilungen zu denken.

Die Agglutinationsproben hatten folgendes Resultat: Zur Identifizierung der verschiedenen Stämme, welche ich bekommen hatte, spritzte ich ein Kaninchen intravenös mit einer Kultur und konnte so ein agglutinierendes Serum bekommen, jedoch nur mit einem Titer von 1 : 800. Die anderen Stämme wurden ebenfalls agglutiniert, aber nicht willkürliche andere Bazillen. Vom Serum normaler Kaninchen wurden die Bazillen nicht agglutiniert.

Das Serum der obengenannten 37 Pat. und noch 29 anderer agglutinierte die Bazillen, nicht jedoch das Serum sicher gesunder Personen. Die Titer waren 1 : 100—1 : 800, aber nicht höher.

Ebenfalls wurden die Bazillen nicht agglutiniert vom Serum von 130 Personen, welche an anderen Krankheiten mit hohen Temperaturen litten. Von 7 Personen wurde 1 Monat nach der Heilung das Blut auf Agglutination untersucht. 3mal wurde ein Titer von 1 : 100, 2mal von 1 : 50 gefunden und 2mal war die Agglutination negativ.

Dasselbe, was ich hier bei meinen Bazillen gefunden habe, wird auch von anderen Untersuchern von ihren Bazillen mitgeteilt. Auf die Frage, ob wir es nur mit einer Paragglutination zu tun haben, will ich nicht eingehen. Komplementbindungsproben hätte ich gern gemacht, aber erst am Ende der Epidemie war ich so weit gekommen, und da gab es kein dazu geeignetes Blut mehr. Zur Kontrolle habe ich in derselben Epidemiezeit mit dem Blut 5 Fiebernder, nicht Grippekranken, und 2 gesunder Personen ebenfalls auf obenbeschriebene Weise Kulturversuche gemacht. Nicht nur von mir, sondern auch von meinen Assistenten, welche nicht wußten, daß es Kontrollproben waren, damit sie nicht unwillkürlich weniger intensiv suchen würden, wurden die verschiedenen Böden untersucht, jedoch ohne Resultat. Alles war steril geblieben. Außer diesen Bazillen habe ich bei obigen 37 Pat. in 2 Fällen außerdem Streptokokken gefunden, nämlich bei 1 Pat. mit Pneumonie mit Empyem und bei 1 Pat. mit Pneumonie und Pleuritis exsudativa, und in 1 Falle Pneumokokken bei einem Pat. mit Pneumonie und Empyem. Diese Fälle wurden 2—3mal 24 Std. vor dem Tode untersucht.

---

[1]) Fromme, Deutsch. med. Wochenschr. 1918. No. 51.

Nur 2mal habe ich Sputum untersucht. Es gelang mir aber nicht, die darin anwesenden Bazillen, welche meinen Bazillen ähnelten, in Reinkultur zu bekommen, da sie immer von anderen Organismen überwuchert wurden.

Aus den Trans- und Exsudaten von 11 Pat. habe ich vornehmlich Streptokokken und Pneumokokken kultivieren können. Außerdem fand ich in diesen im direkten Präparat 5mal kleine, gramnegative Stäbchen, und nur in 2 Fällen habe ich hieraus diese Stächen züchten können. Diese Bazillen hatten dieselben Eigenschaften wie diejenigen, welche aus dem Blut gezüchtet waren. Bei Züchtung auf Agar zeigten sich dieselben Formänderungen. Die Agglutination ergab dieselben Resultate.

Außerdem hatte ich Gelegenheit, von einigen dieser Pat. Sektionsmaterial zu untersuchen, und zwar die Lungen, Drüsen am Hilus der Lungen, Milz und Eiter. Nur 3mal gelang es mir, ähnliche Bazillen in Reinkultur zu bekommen, vielleicht weil sie, wenn sie überhaupt anwesend waren, immer von anderen Organismen überwuchert worden waren. 1mal konnte ich sie aus einer Lunge, 1mal aus einer Drüse am Hilus der Lunge, zusammen mit Pneumokokken, 1mal aus der Drüse am Hilus der Lunge ohne andere Bakterien züchten. Im letzten Falle waren sie in Reinkultur anwesend. Zum Schluß habe ich noch Material von 6 Pat. mit einer Ohrenkrankheit nach Grippe untersuchen können. Diese Pat. waren vom Kollegen de Kleyn operiert worden; aus den Gazestreifen mit Eiter konnten Bazillen gezüchtet werden, welche in allen Eigenschaften den obigen ähnelten.

Vom Serum dieser Pat. wurden diese Bazillen und ebenso die obigen agglutiniert in einer Verdünnung von 1 : 200—1 : 800.

Wie schon gesagt, hatte ich nicht Gelegenheit, ausführliche Versuche mit Tieren, wie Affen und Pferden, zu machen. Für die kleinen Laboratoriumstiere, wie Ratten, Kaninchen, Meerschweinchen und weiße Mäuse, sind sie nicht pathogen. Einspritzungen mit Agar oder Bouillonkulturen wenigstens hatten keine merkbare Auswirkung.

In der Hoffnung, daß vielleicht mittels Blut- oder Speichelkulturen Meerschweinchen krank zu machen wären, sei es daß die Bazillen in diesen Nährböden virulent werden, sei es daß sie darin toxische Produkte oder so etwas (Toxine, toxische Abfallprodukte) produzieren, weil sie doch auf diese Weise und in diesen Medien im menschlichen Körper vorkommen, habe ich in folgender Weise eine Serie von Proben gemacht. Leider konnte ich des Tiermangels wegen nur eine Serie ansetzen und die Versuche nicht fortsetzen.

Ich spritzte ein:

1 Meerschweinchen mit bei 56° C fraktioniert sterilisiertem Speichel einer gesunden Person (zur Kontrolle),
1 Meerschweinchen mit demselben Speichel, geimpft mit meinen Bazillen,
1 Meerschweinchen mit Sputum eines Grippepat.,
1 Meerschweinchen mit Blut einer gesunden Person (zur Kontrolle),
1 Meerschweinchen mit demselben Blut geimpft mit meinen Bazillen,
1 Meerschweinchen mit Blut eines Grippepat.,
1 Meerschweinchen mit einer Bouillonkultur meiner Bazillen (zur Kontrolle),
1 Meerschweinchen mit einer physiolog. Kochsalzsuspension einer Agarkultur (zur Kontrolle).

Nachdem zuerst während einiger Tage die Temperatur aufgenommen worden war, um die täglichen normalen Schwankungen kennen zu lernen, wurden die Tierchen eingespritzt.

Es stellte sich dabei heraus, daß die Meerschweinchen, welche mit dem Blute der Pat. und dem, worin die Bazillen gezüchtet waren, eingespritzt wurden, die höchste Temperatur zeigten; nach einigen Tagen jedoch waren die Temperaturschwankungen wieder normal.

Die Tiere, welche Sputum des Pat. und Speichel, worin die Bazillen geimpft waren, eingespritzt bekamen, waren am meisten krank (ebenfalls hohe Temperaturen) und blieben wohl etwas länger krank als die vorigen; aber auch diese zeigten bald wieder die normalen Temperaturschwankungen. Die Kontrolltiere zeigten ganz und gar keine Abweichungen.

Ich gestehe gern, daß dieser einzelne Versuch keine Beweiskraft hat, aber da mir das Resultat auffiel, habe ich es hier mitteilen wollen. Weil ich, wie gesagt, mich nicht zu Versuchen an Menschen entschließen konnte, habe also auch ich, ebensowenig wie die anderen Forscher, beweisen können, welche Rolle (Haupt- oder Sekundärrolle) meine Bazillen bei dieser Grippeepidemie gespielt haben.

Die Möglichkeit ist also nicht ausgeschlossen, daß auch für diese Bazillen der Weg geebnet ist von einem invisibeln Virus, wie verschiedene Autoren es wollen und bewiesen zu haben meinen, oder von der Noxe unbekannter Natur, wie **Friedberger** und **Konitzer**[1]) annehmen, weil ihre schönen Versuche stark gegen ein invisibles Virus sprechen.

Zugunsten meiner Bazillen würde aber sprechen, daß sie bei einer großen Zahl Grippekranker im Blute gefunden sind, und zwar schon bei 3 am 2. Krankheitstag und außerdem in verschiedenen Organen und Entzündungsprodukten, niemals aber bei gesunden Personen, soweit ich weiß.

Zusammenfassung.

Es gelang, aus dem Blute von 34 Pat. mittels einer Methode (welche darin bestand, daß das Blut auf einem Nährboden, dem Blut des Pat. selbst hinzugefügt war, geimpft wurde), einen Bazillus, der gekörnt oder septiert und unter Umständen pestähnlich war, zu züchten.

Dieser Bazillus zeigte in allen Fällen dieselben Eigenschaften und dieselben Formänderungen und wurde vom Serum Grippekranker agglutiniert, nicht dagegen vom Serum gesunder Personen oder Pat. mit anderen Krankheiten. Außerdem konnten ähnliche Bazillen gezüchtet werden 2mal aus einem Empyem, 2mal aus Drüsen am Lungenhilus, 1mal aus der Lunge und 6mal aus Material, welches ich infolge Ohroperationen bekam.

---

1) **Friedberger** u. **Konitzer**, l. c.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Für Laboratoriumstiere sind sie nicht pathogen. Nur eine Serie Proben konnte gemacht werden, woraus natürlich nur vorläufig ein Schluß gezogen werden kann, und dann nur sehr vorsichtig; und ferner könnte man sagen, daß Speichel- und Blutkulturen für Meerschweinchen schädlich sind. Ein sicherer Beweis für den Wert dieser Bazillen als Erreger der Grippe, z. B. mittels Versuchen an Menschen, konnte nicht geliefert werden. Zugunsten dieser Bazillen könnte aber angeführt werden, daß sie bei einer großen Zahl von Grippekranken im Blute gefunden wurden, daß sie entsprechend der allgemein bekannten plötzlichen Schwere der Krankheit, mit der so kurzen Inkubationszeit, bei 3 schon am 2. Krankheitstage anwesend waren, und daß sie außerdem aus allerlei Organen und Entzündungsprodukten kultiviert werden konnten, und zum Schluß, daß sie nicht von mir, und soweit ich weiß, auch nicht von anderen Untersuchern bei gesunden Personen gefunden worden sind.

Nachdruck verboten.

Ueber das Verhalten der Ruhrbazillen in eiweissfreien Nährböden.

[Aus dem pathologisch-anatomischen Institut der Universität Innsbruck
(Vorstand: Prof. Dr. G. Pommer).]

Von Privatdoz. Dr. **Felix v. Werdt**, und Dr. phil. **Fritz Kopatschek**,

I. Assistent am Institut und Leiter der staatl. bakteriol. Untersuchungsstation

Assistent am Institut für angewandte mediz. Chemie.

Bekanntlich hat das von Drigalski (22) vorgeschlagene und von Lentz (1) und seiner Schule weiter ausgebaute Einteilungsverfahren der Ruhrbazillentypen nach ihrem Verhalten gegenüber gewissen Kohlehydraten und Mannit bei Kruse (2) und seinen Anhängern heftigen Widerspruch hervorgerufen.

Lediglich die Mannitprobe wurde als Unterscheidungsmerkmal zwischen dem giftigen, echten Ruhrbazillus und dem giftarmen Pseudoruhrbazillus von Kruse (2) anerkannt, ja in neuester Zeit wurde er auch im Vertrauen auf diese Probe wankend, da seine im Kriege erst gefundene Rasse J Mannit nicht stets angreift.

Im Laufe der Zeit sind zahlreiche Arbeiten wider und für die Einteilung nach dem chemischen Verhalten geschrieben worden, ohne daß eine Einigung erzielt worden wäre.

Nur einige Arbeiten über die Frage seien zur Orientierung erwähnt:

Lentz (1) veröffentlichte seine diesbezüglichen Untersuchungen, die sich über ein Dutzend Stämme erstreckten, 1902. Er fand damals als durchgreifenden Unterschied zwischen dem echten Ruhrbazillus (Shiga-Kruse) und den Pseudoruhrbazillen, daß letztere Mannit, mit Lackmuslösung versetzt, intensiv röten, erstere unverändert lassen. Untersuchungen mit Maltose, Dulcit, Dextrin, Fruktose und Inulin ergaben, daß nur noch die Maltosezersetzung differentialdiagnostisch verwertbar sei, indem der Typus Flexner-Manila Maltose rötet, der von Strong gefundene sowie der echte Dysenteriebazillus aber nicht. 1903 tritt er der Behauptung Shigas entgegen, daß sich der Typus Shiga-Kruse durch Milchpassage in den Typus Flexner überführen lasse.

Auch **Shiga** (3) hat die Kohlehydratfermentierung benützt und dabei 5 Typen aufgestellt, die sein Schüler Amako (4) bestätigt. Sein Typus I ist sein Originalstamm, der mit Kruses Ruhrbazillus identisch ist. Die anderen Typen sind Mannitspalter, also zur Pseudoruhr gehörig. Seine Typen 2 bis 5 spalten auch Saccharose. In einer 2. Arbeit gemeinsam mit Kojima macht Amako aufmerksam, daß hie und da Unregelmäßigkeiten bei der Fermentierung der Kohlehydrate durch die Ruhrbazillen auftreten, was durch Unreinheit der Präparate oder durch Zersetzungen beim Sterilisieren erklärt wird.

Im selben Jahre (1909) veröffentlichten Baermann und Schüffner (5) einen Pseudodysenteriebazillenbefund in Sumatra. Sie untersuchten denselben mittels der Zuckernährböden, und fanden, daß alle ihre 5 Stämme Mannit und Dextrose sowie Lävulose vergären. Die Benennung erfolgt aber nach Kruses (2) Vorschlag (Pseudodysenterie A).

Der 1903 von Hiss und Russel[1]) beschriebene Typus Y, der, wie sich später herausstellte, mit Kruses Pseudodysenterie der Irren im Wesentlichen sich deckt, vergärt nach Hiss sowie nach Lentz (1) Mannit und Dextrose, nicht aber Maltose.

Die nach der Fermentierung anfgestellten Typen haben sich als Typus Shiga-Kruse, Typus Flexner, Typus Y und Typus Strong bei zahlreichen Autoren eingebürgert.

Kruse hat im Verein mit Rittershausen, Kemp und Metz (6) den Nachweis zu erbringen gesucht, daß das Kohlehydratfermentierungsvermögen schwanke und daher zur Einteilung unbrauchbar sei. Maßgebend sei lediglich der Rezeptorenapparat, wie er bei der Agglutination und besonders beim Absättigunsverfahren nach Castellani zum Ausdruck kommt.

Trotz mehrfacher Angriffe hat Kruse diesen Standpunkt bis heute beibehalten. Auch ihm haben zahlreiche Autoren beigepflichtet, stets unter Hinweis auf die Unbeständigkeit der Zuckervergärung und die Unmöglichkeit, die Agglutinationsresultate mit dem chemischen Verhalten in Uebereinstimmung zu bringen. So verwirft z. B. Lösener (1910) (7) das Lentzsche Verfahren aus letztgenanntem Grunde und bemängelt außerdem die zu geringe Typenzahl bei der Einteilung von Lentz, da z. B. der El Tor I von Ruffer und Wilmore (8) sowie der Bazillus von Konrich (9) nicht einzureihen sind. Ruffer und Wilmore (8) (1910), ebenfalls dem Kruseschen Verfahren folgend, betonen die Verwandtschaft des Stammes El Tor I mit Kruses Pseudodysenterie D. Romm und Balaschow (10) (1912) wiesen darauf hin, daß das Vermögen der Kohlehydratvergärung willkürlich zu verändern, daher nicht zur Einteilung zu gebrauchen sei.

Im selben Sinne spricht sich Hutt (11) (1913) aus, der nach dem Kruseschen Verfahren die Zahl der Pseudodysenterietypen A, B, C, D, E, F noch um die Gruppe H vermehrte. Auch Schütz (12) (1916) fand ein Schwanken auf Zuckerarten und zieht daher die Agglutination und den Castellanischen Versuch vor, ebenso Manteufel (1915).

Demgegenüber bezeichnen Schroeter und Gutjahr (13) (1911) bei frisch isolierten Stämmen das Lentzsche Verfahren als verläßlich; nur bei alten Stämmen versage es. Kopanaris (14) (1911) verwirft direkt die Enteilung nach der Agglutination und bezeichnet nur das kulturelle Verhalten als maßgebend. M. Wassermann (15) (1912) entscheidet sich auch für Lentz, läßt die Agglutination zur Kontrolle gelten und verwirft die anderen serologischen Methoden.

Hallenberger (16) (1914) sah Abweichungen im Verhalten auf Kohlehydraten nur bei alten Stämmen. Sonne (17) (1915) fand das chemische und serologische Verhalten bei seinen Stämmen übereinstimmend.

Aronson (18) (1915) hält die Agglutination mit verschiedenen Sera für das wichtigste differentialdiagnostische Mittel; für die giftarmen Typen sei jedoch das chemische Verhalten verläßlicher. Auch Sternberg (19) (1916) tritt für das Lentzsche Verfahren ein.

Einen Standpunkt für sich nimmt Hebewerth (20) ein. Da es ihm nicht gelungen ist, die kulturellen mit den agglutinatorischen Ergebnissen in Uebereinstimmung zu bringen, so verzichtet er ganz auf eine Einteilung der giftarmen Typen und will die Ruhrdiagnose nur mit einem polyvalenten Serum stellen.

Tatsächlich haftet sowohl dem Kruseschen als auch dem Lentzschen Einteilungsprinzip mancher Nachteil an. Vor allem ist Kruses Verfahren für die Praxis zu kompliziert und würde sich daher schwerer einbürgern als das einfache und bequemere Lentzsche. Dazu kommt noch; was Kruse selbst zugibt, daß eine Rasse, die verloren geht, streng genommen, nach Kruses Verfahren nie mehr mit Sicherheit wiedergefunden werden kann, ein Umstand, der zur schließlichen Aufstellung endloser Typen führen muß, wodurch die Uebersicht ungeheuer erschwert wird. Ferner ist durch die Entdeckung der Paragglutination durch Kuhn und Woithe (21) (1909) der Wert

---

1) Siehe bei Lentz (1).

der Agglutination außerordentlich eingeschränkt worden, und somit die Bestimmung der Typen nach ihrem Rezeptorenapparat immerhin etwas bedenklich geworden. Andererseits ist richtig, daß sich in das heute gebräuchliche Lentzesche Schema, wie schon oben erwähnt, manche neu gefundene Typen nicht unterbringen lassen. Allerdings ist nicht einzusehen, warum eine Erweiterung desselben nicht möglich sein sollte, sofern man noch andere Zuckerarten, oder andere kulturelle Merkmale mit einbezieht. So stellt ja auch Aronson (18) einen Typus V auf, der sich vom Typus Flexner kulturell nur durch Farbstoffbildung auf gewöhnlichem Agar unterscheidet.

Wie man sieht, ist eine Einigung in der alten Streitfrage noch durchaus nicht angebahnt. Dazu kommt, daß besonders während des Krieges teils neue Typen, z. B. die Rasse J von Kruse (2) (1917), teils ganz neue Arten als Dysenterieerreger aufgestellt wurden, wie der Bazillus von Czaplewski (23) (1917). Andere haben gar, wie Dorendorf und Kolle (24) (1916), die Ruhrbazillentypen nur als Begleitbakterien aufgefaßt, und sehen die Aetiologie der Ruhr als ungeklärt an, während Kulka (25) (1917) Anaërobier, und zwar die „asporogene Form des Fraenkelschen Gasphlegmonebazillus“, für den Erreger ruhrartiger Erkrankungen hält. Nicht genug damit, scheint das Bact. coli dysentericum von Celli (26) (1895) noch Anhänger zu haben, wenigstens setzte sich Galli Valerio (27) am internationalen Kongreß in Budapest (1910) noch dafür ein und identifiziert damit das von ihm im Veltlin gefundene Stäbchen. Außerdem ist die von Deycke und Reschad (28) 1901 aufgerollte Frage der Paradysenterie noch durchaus nicht geklärt.

Unter diesen Umständen dürfte die Auffindung eines allen Typen der Ruhrbazillen gemeinsamen kulturellen Merkmales, das also deren enge Zusammengehörigkeit erweist und das diese von dem verwandten Bact. coli, typhi, paratyphi und enteritidis sicher unterscheidet, von großer Bedeutung sein.

Ohne zunächst voreilige Schlüsse ziehen zu wollen, glauben wir, zufällig in dem Verhalten der Dysenteriebazillen auf einem eiweißfreien Nährboden ein solches Merkmal gefunden zu haben, und teilen hier unsere diesbezüglichen Befunde mit 1).

Zur Untersuchung zogen wir außer einer Reihe von uns selbst aus Ruhrstühlen isolierten Dysenteriestämmen noch einige Teststämme, die wir aus der Králschen Sammlung am serotherapeutischen Institut in Wien bezogen haben, heran.

---

1) Unsere Versuche verdanken ihre Entstehung der Absicht, die Reaktionen in den zur Differentialdiagnose der Coli-Typhus-Ruhrgruppe verwendeten Lösungen chemisch genauer zu untersuchen, wobei uns der komplizierte Bau der Barsiekow-Lösungen störend schien. Aus äußeren Gründen mußten jedoch die Untersuchungen abgebrochen werden, obschon sie sicher von Interesse wären, da bisher nur wenig chemische Analysen über diese Reaktionen vorliegen.

Wenn wir von den Arbeiten von Buchner, Petruschky etc. absehen, die lediglich die Säure- und Gasbildung konstatierten und zu diagnostischen Zwecken verwerteten, während Seginé bei Zusatz von Nutrose (Milchkaseïn) zu den zuckerhaltigen Nährböden gleichzeitig Säuerung und Gerinnung feststellen konnte und ebenfalls zur Differentialdiagnose brauchbar fand, liegen nur Arbeiten von Kayser vor, der nachwies, daß die Bakterien der Coli-Typhusgruppe aus Traubenzucker neben der alkoholischen, ameisensauren und essigsauren immer die anscheinend vorwiegend milchsauere Gärung hervorrufen, während Brieger die letztere nicht fand, was sich wohl nur auf bestimmte Stämme beziehen kann. Bei den Ruhr- und Pseudoruhrbazillen ist es nach Brieger fraglich, ob die essigssure und ameisensaure Gärung die milchsaure ersetzt.

Bei diesen Arbeiten zeigte es sich, daß von den Monosacchariden Hexosen und Pentosen meist gleich stark vergoren werden. Aus Hexosen (Dextrose davon hauptsächlich untersucht) wird Milch-, Ameisen- und Essigsäure sowie Alkohol gebildet, aus Pentosen außerdem Spuren von Bernsteinsäure. Das Verhältnis der Essigsäure zum Alkohol ist wechselnd. Von den Disacchariden wird Maltose am häufigsten, Laktose und Saccharose seltener bei Gärung zersetzt.

Bact. coli erzeugt aus Dextrose und Fruktose außer viel Milchsäure gleiche Mengen Essigsäure und Alkohol (letzterer wurde von Sera nicht gefunden), Kohlendioxyd und Wasserstoff. Typhusbazillen lieferten ähnliche Stoffe wie Coli, nur wurden die Gase (CO_2 und H_2) durch Ameisensäure ersetzt, was Sera auch von den Dysenterie- und Pseudodysenteriebazillen fand. Von Typhus- und Ruhrbazillen wird also kein Gas gebildet.

Sämtliche Stämme sind in flüssigen, zum Teil auch auf festen Nährböden, denen die üblichen Zuckerarten und Mannit zugesetzt waren, auf ihr Fermentierungsvermögen wiederholt geprüft worden.

Tab. I zeigt das Verhalten unserer Stämme auf diesen Nährböden.

Tabelle I

zeigt das Verhalten der untersuchten Stämme in den Lackmus-Nutroselösungen nach Barsiekow mit Zusatz verschiedener Zuckerarten und von Mannit (nach 48-stündiger Bebrütung bei 37 ° C).

Stamm	Traubenzucker	Milchzucker	Mannit	Maltose	Saccharose	Bemerkungen
Teststamm Shiga-Kruse, Wien	rot	unverändert	unverändert	unverändert	unverändert	
Teststamm Flexner, Wien	„	dgl.	rot	rot	dgl.	
Teststamm Y, Wien	„	„	„	unverändert	„	nach 60 Std. manchmal schwache Maltoserötung
416/1918 Strong	„	„	„	dgl.	rot	im Institut isoliert
Teststamm Typhus, Wien	„	„	„	rot	unverändert	
Teststamm Paratyphus A, Hygiene Innsbruck	„	„	„	„	dgl.	
Teststamm Paratyphus B, Hygiene Innsbruck	„	„	„	„	„	
Teststamm Enteritis Gärtner, Wien	„	„	„	„	„	
Coli 151	„	rot	„	„	„	im Institut isoliert

Genau wie Teststamm Shiga-Kruse, Wien verhalten sich die im Institut gezüchteten Stämme 248/1918, 66/1918, 249/1918; wie der Teststamm Flexner-Wien verhält sich Stamm 233/1918; wie der Teststamm Y-Wien verhalten sich die Stämme 752/1917, 387/1918, 122/1918, 134/1918, 119/1918, 137/1918, 141/1918, 161/1918, 229/1918, 245/1918, 274/1918 und der in Wolhynien isolierte Stamm Koller. Wie der Teststamm Typhus-Wien verhalten sich 136/1918, 406/1914 und 436/1918. Wie der Teststamm Paratyphus A Hygiene Innsbruck verhält sich Stamm 653/1918 und der in Wolhynien isolierte Stamm Koller A. Wie der Teststamm Paratyphus B, Hygiene Innsbruck verhält sich Stamm 414/1918.

Hiernach sind die Stämme 248/1918, 66/1918, 249/1918 typische Shiga-Kruse-Bazillen, was auch die Agglutination beweist (vgl. Tab. II). Der Stamm 233/1918 stimmt vollkommen mit dem Flexner-Stamm Wien überein und wird auch nur von Flexner-Serum agglutiniert. Die Stämme Y Koller, 752/1917, 387/1918, 122/1918, 134/1918, 119/1918, 137/1918, 141/1918, 161/1918, 229/1918, 245/1918 und 274/1918 sind typische Y-Stämme; ihr serologisches Verhalten stimmt mit dem auf den Nährböden überein. Stamm 416/1918 ist nach Nährböden und Agglutination als Typus Strong zu bezeichnen. 136/1918, 406/1914, 436/1918 sind Typhusstämme, 653/1918, 414/1918 sind Paratyphus A-Stämme, 151 ist ein typisches Coli.

Betreffs der Verläßlichkeit der Fermentierung können wir sagen, daß wir bei einer Beobachtungsdauer, die sich nicht über 48 h erstreckte, stets gleichmäßige Resultate erhielten, wobei die Ablesung des Resultates in flüssigen Nährboden weit sicherer ist, als auf festem Agar. Erstreckte sich die Ablesung auf längere Zeit, so kamen Abweichungen vor, wie Maltoserötung durch Y-Stämme oder auch leichte Rötungen von Saccharose durch einen oder den anderen Stamm, so daß die Diagnose nicht sicher zu stellen war. Es ist ja begreiflich, daß bei langer Einwirkungsdauer derartige Umsetzungen durch verschiedene Möglichkeiten (wie Hydrolyse etc.) eintreten können. In der Praxis fällt übrigens eine längere Beobachtung aus Dringlichkeitsgründen weg.

Außer der kulturellen Diagnose wurden alle Stämme mit verschiedenen, vom Wiener serotherapeutischen Institut bezogenen, hochwertigen Immunseren agglutiniert.

Tab. II zeigt die hierbei erhaltenen Agglutinationswerte.

Tabelle II

zeigt die Agglutination der Stämme mit den von Wien bezogenen Immunseris.

Stämme		Shiga-Kruse Pferdeserum Titer 1:2000	Flexner Pferdeserum Titer 1:2000	Y-Hiss Kaninchenserum Titer 1:3000	Strong Kaninchenserum Titer 1:10 000	Typhus Pferdeserum Titer 1:8000	Paratyphus A Ziegenserum Titer 1:3000	Paratyphus B Pferdeserum Titer 1:10 000	Enteritis Gärtner Pferdeserum Titer 1:32 000
Art	Bezeichnung								
Dysenterie Shiga-Kruse	Teststamm Wien	1:2000	0	0	0	0	0	0	0
	248/1918	1:15000	0	0	0	0	0	0	0
	66/1918	1:1000	0	0	0	0	0	0	0
	249/1918	1:750	0	0	0	0	—	0	—
Dysenterie Flex.	Teststamm Wien	0	1:2000	0	0	0	—	—	—
	233/1918	0	1:1000	0	0	1:100	0	—	—
Dysenterie Y-Hiss	Teststamm Wien	0	0	1:2000	0	0	—	—	—
	752/1917	0	0	1:500	—	—	—	0	—
	134/1918	0	0	1 . 1000	—	—	—	—	—
	245/1918	0	0	1:1800	—	—	—	—	—
Dysent. Strong	416/1918	0	0	0	1:900	—	—	—	—
Typhus	Teststamm Wien	0	0	0	0	1:1000	0	0	—
	406/1914	0	0	0	0	1:3000	0	0	—
Paratyphus A	Teststamm Hygiene-I.	—	0	—	—	0	1:1000	0	0
	Koller A	—	0	—	—	0	1:2500	0	0
Paratyphus B	Teststamm Hygiene-I.	—	—	—	—	0	0	1:2000	.
Enteritis Gärtner	Teststamm Wien	—	—	—	—	0	0	0	1:2000
Coli	151	0	0	0	0	0	0	0	0

Gleich wie der Wiener Dysenterie Y-Stamm verhalten sich bezüglich ihres agglutinatorischen Verhaltens die von mir isolierten Stämme 387/1918, 122/1918, 119/1918, 141/1918, 161/1918; 229/1918 und 274/

1918, der Stamm Koller Wolhynien wird sogar höher, bis 1:2300 agglutiniert. Gleich wie 134/1918 verhält sich Stamm 137/1918.

Die von mir gezüchteten Typhusstämme werden alle wie Stamm 406/1914 und der sich gleich verhaltende Stamm 436/1918 höher als der Wiener Stamm, nämlich 1:3000, Stamm 136/1918 sogar bis 1:4000 agglutiniert.

Der von mir reingezüchtete Stamm 653/1918 wird gleich wie der Teststamm Hygiene Innsbruck (I.) 1:1000, der Stamm Koller A sogar 1:2500 agglutiniert. Der im Institut gezüchtete Paratpphus B-Stamm 424/1918 wird bis 1:2500 agglutiniert. Bei diesen außerhalb der Tabelle aufgezählten Stämmen wurden keinerlei Mitagglutinationen beobachtet.

Hierorts muß bemerkt werden, daß wir bei Y und Flexner häufig, bei Shiga-Kruse fast nie eine auffallend grobflockige Agglutination bemerken konnten, wie sie von Dünner (29) als einzig spezifisch für die Dysenterie gefordert wird. Mitagglutinationen waren sehr selten, wobei allerdings zu erwähnen ist, daß wir erst bei Verdünnungen von 1:100 begannen, also niedrigere Werte uns entgangen sind.

Den Castellanischen Versuch konnten wir aus Mangel an den nötigen Versuchstieren nicht ausführen.

Aus hier nicht näher zu erörternden Gründen haben wir sämtliche in Tab. I und II aufgeführte Stämme auf einen eiweißfreien Nährboden geimpft. Derselbe ist im wesentlichen dem von Fraenkel angegebenen analog zusammengesetzt:

300 ccm destillierten Wassers wurden mit 2 g Kochsalz, 0,6 g sekundärem Kaliumphosphat, 2 g Asparaginsäure und 0,6 g tertiärem Natriumphosphat versetzt und die Flüssigkeit ca. 14 h bei Zimmertemperatur (22°) stehen gelassen. Nach dieser Zeit war nur ein Teil der Asparaginsäure gelöst. Um die vollständige Lösung herbeizuführen und die Flüssigkeit zugleich zu sterilisieren, wurde sie in einem 500 ccm fassenden, mit Wattepfropfen versehenen Erlenmeyer-Kolben 1½ h im Autoklaven gekocht, wobei sich, bis auf eine Spur, die Asparaginsäure löste. Nach Abkühlen wurde die Sterilisierung noch 2mal durch je 1½ h wiederholt. Gleichzeitig wurden in 5 je 100 ccm fassenden Kolben in 10 ccm Lackmuslösung (nach Kubel und Tiemann, von Kahlbaum bezogen) je 0,8 g Dextrose, resp. Laktose, Maltose, Saccharose resp. Mannit gelöst und 2mal 20 Min. im Autoklaven sterilisiert. (Hierbei ist darauf zu achten, daß genügend Wasser im Autoklaven ist, da sonst der Lackmusfarbstoff zerstört wird.)

Die obige Menge von 300 ccm wird in 5 Kolben zu je 60 ccm verteilt, mit den Zuckerlösungen vermischt und mit 10-proz. Sodalösung alkalisiert, wobei zur Dextroselösung 4,8 ccm, zur Laktoselösung 4 ccm, zum Mannit 4,2 ccm, zur Maltose 5,5 ccm und endlich zur Saccharose 4,5 ccm verwendet wurden.

Die so erhaltenen Lösungen wurden zu je 3 ccm in Reagenzröhrchen abgefüllt und dieselben wieder 2mal 20 Min. im gespannten Dampf sterilisiert. Die Lösungen hielten sich sowohl bei Zimmertemperatur als auch im Brutschrank bei 37° durch mehrere Wochen völlig unverändert.

Nun wurden diese Röhrchen mit Reinkulturen der verschiedenen in Tab. I und II bezeichneten Stämme beimpft, und zwar erhielt jedes Röhrchen die Normalöse einer 2 Tage alten Agarkultur. Hierauf wurden sie in den Brutschrank von 37° gestellt und zu verschiedenen Zeiten beobachtet.

Sämtliche Dysenteriestämme veränderten auch nach längerer Beobachtungszeit, die zum Teil bis 192 h ausgedehnt wurde, den Nährboden resp. die mit dem Indikator versetzten Zuckerarten resp. Mannit nicht, während der Typhus, Paratyphus A und B, Bact. enteritidis Gärtner und das Bact. coli den Nährboden in derselben typischen Weise veränderten, wie die Nutrosenährböden nach Barsiekow, nur trat manchmal bei Typhus der Umschlag in den eiweißfreien Nährboden etwas später ein als in den eiweißhaltigen. Ferner machten wir die Beobachtung, daß ganz frisch aus dem menschlichen Körper isolierte Stämme im eiweißfreien Substrat nicht angingen, sondern erst nach mehrmaliger Umzüchtung auf gewöhnlichem Agar. (Auf eine tabellarische Zusammenstellung wurde aus technischen Gründen verzichtet.)

Hierbei erhielten sich die Dysenteriestämme sowohl, wie die Bakterien der Typhus-Coli-Gruppe lebensfähig, wie Ueberimpfungen aus den Röhrchen auf Endo-Agar oder gewöhnlichen Agar zeigten; allerdings war das Wachstum oft ziemlich schwach, besonders bei frisch isolierten Stämmen, was immerhin anzeigt, daß der Nährboden den Dysenteriebazillen keine besonders günstigen Lebensbedingungen bietet. Involutionsformen habe ich dabei nicht beobachtet. Dies gilt aber auch für den Typhus- und Paratyphus A-Bazillus, während Bact. paratyphi, B, enteritidis Gärtner und coli das Eiweiß anscheinend weniger vermißten.

Es zeigte sich also hier ein ganz wesentlicher Unterschied zwischen den Dysenteriebazillen und den übrigen Vertretern der Typhus-Coli-Gruppe. Ehe wir unsere Folgerungen hieraus ziehen, mögen noch einige Versuche Erwähnung finden:

Um zu sehen, ob die auf eiweißfreiem Medium gezüchteten Ruhrbazillen die Fähigkeit, Kohlehydrat zu vergären, überhaupt eingebüßt haben, oder aber unter günstigen Bedingungen wieder gewinnen, haben wir zu den längere Zeit im Brutschrank und zum Teil nachher noch durch einige Tage bei Zimmertemperatur beobachteten eiweißfreien Ruhrkulturen, die durchaus keine Veränderungen erfahren hatten, leicht alkalisches Peptonwasser zugesetzt und nun die Kulturen neuerdings bei 37 ° gehalten.

In diesem Nährboden verliefen nun die Reaktionen vollkommen typisch, wie in den Barsiekowschen Lösungen (vgl. Tab. I). Das Vergärungsvermögen für Kohlehydrate ist also in den eiweißfreien Nährboden nicht vernichtet, sondern lediglich latent geworden. Eiweißzusatz läßt dasselbe sofort hervortreten.

Wir haben somit feststellen können, daß in dem Verhalten der Ruhrbazillen gegenüber Kohlehydraten und Mannit im eiweißfreien Nährboden ein allen Ruhrbazillentypen gemeinsames Merkmal besteht, wodurch sie sich von den übrigen Vertretern der Typhus-Coli-Gruppe unterscheiden.

Hierdurch erfährt einerseits die Forderung von Lentz (1), daß die Ruhrbazillen als eigene Gruppe von der Typhus-Coli-Gruppe abzutrennen seien, eine wesentliche Stütze, andererseits spricht das übereinstimmende Verhalten aller Ruhrbazillentypen für ihre enge Zusammengehörigkeit und auch für ihre Bedeutung für die Entstehung der Ruhr.

Schließlich scheint uns der typische Ablauf der Kohlehydratvergärung im eiweißfreien Nährboden nach Peptonzusatz auf einen wesentlichen Unterschied zwischen dem Ferment der Ruhrbazillen und dem der Vertreter der Typhus-Coli-Gruppe hinzudeuten.

Dabei sind allerdings 2 Möglichkeiten ins Auge zu fassen. Es könnte einmal angenommen werden, daß zwar alle untersuchten Bakterienstämme im eiweißfreien Nährboden Ferment bilden, daß aber das Ferment der Typhus-Coli-Gruppe in der Lage ist, Kohlehydrate direkt abzubauen, während das der Ruhrbazillen nur auf dem Umwege über den Eiweißabbau die Zuckerarten anzugreifen vermag.

Die andere Möglichkeit ist die, daß überhaupt ohne Eiweiß kein Ferment gebildet wird. Verschiedene Umstände machen diese 2. Annahme wahrscheinlicher.

Aus den Untersuchungen von Doerr (30) wissen wir, daß ohne Eiweiß vom Bact. Shiga-Kruse kein Toxin gebildet wird.

Unsere Untersuchungen haben ferner gezeigt, daß nach Peptonzusatz die Reaktionen in den Zuckernährböden durch die Dysenteriebazillen erst nach 15—20 Std. auftreten, eine Reaktionsdauer, die bei vorhandenem Ferment wohl zu lang erscheinen muß.

Schließlich sind auch die Fermentstudien von Jakoby (31) an Proteus und Bact. coli im gleichen Sinne ausgefallen. Jakoby (31) arbeitete mit dem von unserem Nährboden etwas abweichenden Uschinskyschen Nährsubstrat, und fand, daß Proteus nur bei Anwesenheit von Leucin Ferment bilde. Bact. coli vermochte im Uschinsky-Nährboden ebenfalls nur bei Leucingegenwart sein harnstoffspaltendes Ferment zu erzeugen.

Interessant und mit unseren Versuchen übereinstimmend ist die Entdeckung Jakobys (31), daß das zuckerspaltende Ferment des Bact. coli auch ohne Leucin entsteht, ja daß Leucin sogar hemmend auf diese Fermentbildung einwirke.

Literatur.

1) Lentz, Vergleichende kulturelle Untersuchungen über die Ruhrbazillen und ruhrähnliche Bakterien, nebst einigen Bemerkungen über den Lackmusfarbstoff. (Zeitschrift f. Hyg. Bd. 41. 1902. S. 559.); ders., Weitere Beiträge zur Differenzierung des Shiga-Kruseschen und Flexnerschen Bazillus. (Ebenda. Bd. 43. 1903. S. 480.); ders., Dysenterie. (Handb. d. pathog. Mikroorganism. v. Kolle-Wassermann. 2. Aufl. Bd. 3. 1913. S. 899.) — 2) Kruse, Zusammenfassender Bericht über Ruhrforschung. (Veröffentl. a. d. Geb. d. Medizinalverwaltg. 1912.); ders., Ueber die Veränderlichkeit der Seuchen, insbesondere des Typhus und der Ruhr. (München. med. Wochenschr. 1917. No. 40. Feldärztl. Beil. S. 1309.) — 3) Shiga, Typen der Dysenteriebazillen, ihr epidemisches Verhalten und serotherapeutische Studien. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 60. 1908. S. 75.) — 4) Amako, Dysenterieepidemien und Bazillentypen. Epidemiologisch-bakteriologische Beobachtungen über die Dysenterie der Stadt Köbe. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 60. 1908. S. 93.); ders. u. Kojima, Weitere Studien über verschiedene Typen von Dysenteriebazillen und ihre Differenzierung durch die Komplementbindungsmethode. (Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Orig. Bd. 3. 1909. S. 467.) — 5) Baermann u. Schüffner, Ueber Pseudodysenterie. (München. med. Wochenschrift. 1909. S. 384.) — 6) Kruse, Rittershausen, Kemp u. Metz, Dysenterie und Pseudodysenterie. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 57. 1907. S. 417.) — 7) Lösener, Beiträge zur Aetiologie der Bazillenruhr. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 55. 1910. S. 257.) — 8) Ruffer u. Wilmore, On the etiology of dysentery. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Refer. Bd. 45. 1910. S. 392.) — 9) Konrich, Ueber eine isoliert gebliebene Epidemie bazillärer Ruhr in Mitteldeutschland und einen dabei gefundenen zwischen den Typen Shiga-Kruse und Flexner stehenden Bacillus. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 60. 1908. S. 281.) — 10) Remm u. Balaschow, Die Ruhrepidemien der Jahre 1910 u. 1911 in Kiew und ihre Erreger. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd 66. 1912. S. 246.) — 11) Hutt, Beiträge zur Kenntnis der Pseudodysenterie und Paradysenterie, sowie der sogenannten Mutation. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 74. 1913. S. 108.) — 12) Schütz, Zur bakteriologischen Diagnose und Epidemiologie der Ruhr. (Berlin. klin. Wochenschr. 1916. S. 203.); ders., Zur bakteriologischen Diagnose und Epidemiologie der Ruhr. (Deutsch. med. Wochenschr. 1916. S. 442.) — 13) Schroeter u. Gutjahr, Vergleichende Studien der Typhus-Coli-, Dysenteriebakterien im Anschluß an eine kleine Ruhrepidemie in Mitteldeutschland. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 58. 1911. S. 576.) — 14) Kopanaris, Ph., Beitrag zum kulturellen und serologischen Verhalten der Dysenteriebakterien. (Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. 15. 1911.

S. 455.) — 15) Wassermann, M., Ueber das Verhalten der verschiedenen Typen der Dysenteriebazillen in serologischer Hinsicht. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 71. 1912. S. 241.) — 16) Hallenberger, Die Aetiologie der Dysenterie in Südkamerun. (Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. 18. 1914. S. 551.) — 17) Sonne, Ueber die Bakteriologie der giftarmen Dysenteriebazillen (Paradysenteriebazillen). (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 75. 1915. S. 408.) — 18) Aronson, Bakt. Erfahrungen über Kriegsseuchen (Dysenterie). (Med. Klin. 1915. S. 1284.) — 19) Sternberg, Ueber Dysenterie. (Wien. klin. Wochenschr. 1916. S. 1221.) — 20) Hebewerth, Ueber Dysenteriebazillen und ihre Einteilungsgruppen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 78. 1016. S. 3.) — 21) Kuhn u. Woithe, Ueber ungewöhnliche Bakterienbefunde bei Ruhrkranken. III. Tagung der freien Vereinigung f. Mikrobiologie. Wien 1909. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Refer. Bd. 44. 1909. Beih.); ders., Gildemeiser u. Woithe, Ueber bakteriologische Beobachtungen bei Irrenruhr, insbesondere über die Erscheinung der Paragglutination. (Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamte. Bd. 31. 1911. S. 394; Nachtrag Bd. 38. 1912. S. 399.). — 22) Drigalski, Diskussion bei Kuhn u. Woithe. — 23) Czaplewski, Ueber Ruhr. (Deutsch. med. Wochenschr. 1917. S. 1347.) — 24) Dorendorf u. Kolle, Klinische und bakteriologische Beobachtungen über Ruhr, während des Sommerfeldzuges bei der Armee in Galizien und Russisch-Polen. (Deutsch. med. Wochenschr. 1916. S. 561.) — 25) Kulka, Anaërobisch wachsende Darmbakterien und ihre Beziehungen zu den „ruhr“artigen Erkrankungen. (Med. Klin. 1917. S. 1269.) — 26) Celli-Fiocca, Ueber die Aetiologie der Dysenterie. Vorläufige Mitteilung. (Centralblatt f. Bakt. Abt. I. Bd. 17. 1895. S. 309.); ders. u. Valenti, Nochmals über die Aetiologie der Dysenterie. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 25. 1899. S. 481.) — 27) Galli-Valerio, L'étiologie et la prophylaxie de la dysenterie bactérienne. (Centralblatt f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 45. 1910. S. 321.) — 28) Deycke, Zur Aetiologie der Dysenterie. (Deutsch. med. Wochenschr. 1901. S. 10.) — 29) Dünner, Die Agglutination bei Ruhr und ruhrartigen Erkrankungen. (Berlin. klin. Wochenschr. 1915. S. 1184.) — 30) Doerr, Das Dysenterietoxin. (Zit. bei Lentz, Kolle-Wassermann, 2. Aufl. Bd. 3. 1913. S. 899.) — 31) Jakoby, Ueber Fermentbildung. III. (Biochem. Zeitschr. Bd. 81. 1917. S. 332.); ders., Ueber Fermentbildung. VI. (Ebenda. Bd. 86. 1918. S. 329.)

Nachdruck verboten.

Weil-Felixsche Reaktion und X 19-Immunserumagglutination.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Breslau (Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. R. Pfeiffer).]

Von Prof. Dr. **Carl Prausnitz.**

Die weitgehende Spezifizität der Weil-Felixschen Reaktion für Fleckfieber ist durch die Erfahrungen der letzten Jahre erprobt worden. Der praktische Wert der Reaktion wird nicht wesentlich beeinträchtigt durch die Angabe mancher Autoren, daß sie gelegentlich bei klinisch sicheren Fällen vermißt wird, um so mehr, als nach den Erfahrungen von Oettinger bei hinreichend oft ausgeführten Untersuchungen eine positive Reaktion in keinem Falle von Fleckfieber gänzlich fehlt. Weit störender ist das allerdings seltene Vorkommen einer positiven Reaktion bei Personen, die sicher nicht an Fleckfieber leiden oder gelitten haben. Hier handelt es sich allerdings meistens um nur schwache Reaktionen in hohen Konzentrationen des Serums (1:25, 1:50, ausnahmsweise 1:100 [Weil und Felix, Fuchs, Dietrich, Ghon und Roman]). Bei einigen dieser Fälle könnte es zweifelhaft sein, ob sie nicht früher an Fleckfieber erkrankt gewesen waren und eine sonstige fieberhafte Erkrankung zur vermehrten Abscheidung von X 19-Agglutininen ins Blut geführt hatte, ähnlich wie es z. B. für die Typhusagglutinine bekannt ist. Vielleicht mag auch hie und da eine Komplikation leichten

Fleckfiebers mit anderen Krankheiten vorgelegen haben. Im Fall von Jungmann und Kuczynski könnte nach der Auffassung dieser Forscher die positive Reaktion bei wolhynischem Fieber der Ausdruck einer Verwandtschaft dieser Krankheit mit Fleckfieber sein. Das Eine aber steht fest: zuweilen kommt eine ausgesprochen positive X 19-Agglutination vor, obwohl Fleckfieber bestimmt auszuschließen ist. Wahrscheinlich handelt es sich hier immer um Proteus-Infektionen, so z. B. in den interessanten Fällen von Much und Soucek.

Unter diesen Umständen war es geboten, die serologischen Verhältnisse bei Proteus-Infektionen und — da diese selten sind — bei künstlich hergestellten X 19-Immunseren näher zu untersuchen. Friedberger kam auf Grund von Absorptionsversuchen zur Auffassung, daß ein grundsätzlicher Unterschied zwischen einem vom Kaninchen gewonnenen Proteus-X 19-Immunserum und dem Fleckfieberkrankenserum nicht bestände; denn mit Kaninchenimmunagglutininen beladene X 19-Bazillen erschöpften die Agglutinine eines menschlichen Fleckfieberserums nicht mehr, und umgekehrt. Dagegen wiesen Hamburger und Bauch, Weil und Felix, Csépai, Jacobitz, Braun und Salomon nach, daß im Fleckfieberserum die X 19-Agglutinine durch Erhitzung auf etwa 56° zerstört werden, während sie im Serum mit X 19 immunisierter Kaninchen und anderer Versuchstiere bei dieser Behandlung nicht abgeschwächt werden. Weil und Felix wiesen einen interessanten Unterschied in der Hitzebeständigkeit der künstlich gewonnenen Immunagglutinine gegenüber der „H“-Form und der „O“-Form der X 19-Bazillen nach: nur die ersteren waren hitzebeständig, die letzteren gingen ebenfalls bei 56° zugrunde.

Die Empfindlichkeit der X 19-Kulturen gegen Erhitzung auf 56° ist bekannt. Auch hier ist von einigen Forschern ein Unterschied zwischen den beiden Serumarten beschrieben worden: Csépai sah nur beim Fleckfieberserum eine erhebliche Abschwächung in der Agglutinierbarkeit der Kultur, die auf 50—55° erhitzt war, gegenüber der unerhitzten sowie der auf höhere Grade erhitzten, während beim X 19-Immunserum dieser Unterschied völlig ausblieb. Jacobitz sah ein fast vollständiges Ausbleiben der Agglutination der auf 56° erhitzten Kultur durch Fleckfieberserum gegenüber einer nur mäßigen Abschwächung im X 19-Immunserum. Noch weniger ausgeprägt waren bei Braun und Salomons Versuchen die Unterschiede.

So interessant diese Versuche sind, so fehlte doch das letzte Glied in der Kette, solange man das menschliche Fleckfieberkrankenserum mit einem vom Tier gewonnenen X 19-Immunserum verglich. Denn auch gegenüber anderen Bakterien sind Verschiedenheiten in der Hitzebeständigkeit der Agglutinine je nach der Art des Serumspenders bekannt. Man kann daher zu bindenden Schlüssen nur kommen, wenn man mit dem Fleckfieberkrankenserum das Serum künstlich gegen X 19 immunisierter Menschen vergleicht. Diesen Weg haben bereits Werner und Leoneanu beschritten, die in Rumänien 12 Personen mit abgetöteten X 19-Kulturen behandelten und hier ganz entsprechende Ergebnisse erhielten, wie die zuvor genannten Forscher im Tierversuch fanden. Das Immunserumagglutinin erwies sich auch hier als weit hitzebeständiger, es war noch bei 65° erhalten und wurde erst bei 70° zerstört.

Wenn nun auch durch diese wertvollen Versuche ein wesentlicher Schritt zur Klärung der vorliegenden Frage getan ist, so können auch sie nicht als vollkommen beweisend angesehen werden: denn sämtliche

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

12 Versuchspersonen stammten (im fleckfieberverseuchten Rumänien!) aus Familen oder aus Häusern, in denen klinisch und serologisch festgestellte Fleckfieberfälle vorgekommen waren; bei allen mußte es daher zweifelhaft sein, ob sie nicht schon früher an Fleckfieber gelitten hätten, und ob die nach der Impfung aufgetretene positive Reaktion vielleicht durch das Aufflammen einer latent gewordenen Weil-Felixschen Reaktion unter dem Reiz der Impfung zu erklären wäre.

Ich habe es daher für richtig gehalten, den Versuch an mir selber nochmals zu wiederholen. Ich bin in dieser Hinsicht eine sicher einwandfreie Versuchsperson, da ich, abgesehen von vorübergehenden Besuchen in fleckfieberverseuchten Gefangenenlagern im Winter 1914/15, bei denen ich dauernd gesund war, nur auf dem westlichen Kriegsschauplatze gewesen und nie mit Fleckfieberkranken in Berührung gekommen bin. Es wurden injiziert am 14., 17. und 21. Okt. 1919 $^{1}/_{1000}$, $^{1}/_{300}$ und $^{1}/_{20}$ einer gut gewachsenen X 19-Kultur (Hauchform), die 45 Min. auf 56° erhitzt worden war. Nach der ersten und zweiten Einspritzung trat keine, nach der dritten eine erhebliche örtliche und mäßige Allgemeinreaktion auf. Die Blutentnahme erfolgte am 21. Nov. 1919. Das Ergebnis der Untersuchung zeigt die nachstehende Tabelle 1:

Tabelle 1.

	X 19, unerhitzt	X 19, 1 h 56°
Serum unerhitzt	1 : 2 560 +++	1 : 640 +++
	1 : 5 120 +	1 : 1 280 ++
	1 : 10 240 +	1 : 2 560 ++
	1 : 20 480 Spur	1 : 5 120 Spur
	1 : 40 960 0	1 : 10 240 0
Serum 1 h 56°	1 : 2 560 +++	1 : 1 280 +++
	1 : 5 120 +	1 : 2 560 +
	1 : 10 240 +	1 : 5 120 Spur
	1 : 20 480 +	1 : 10 240 0
	1 : 40 960 0	
Serum 1 h 65°	1 : 640 +++	nicht angesetzt
	1 : 1 280 +	
	1 : 2 560 0	
Serum 1 h 70°	1 : 20 und höhere Verdünnungen 0	nicht angesetzt

Das unerhitzte Serum agglutinierte in 1 : 60 Verdünnung Typhus, Paratyphus A und B nicht, Ruhr Y +, Flexner und Shiga Spur; in 1 : 120 waren alle negativ. (Ich war im Kriege an klinisch, nicht bakteriologisch festgestellter Ruhr erkrankt.)

Das makroskopische Aussehen der Reaktion unterschied sich nicht nennenswert von der typischen Weil-Felixschen. Die Flocken waren in den stärksten Konzentrationen groß und lagerten sich früh am Boden des Glases ab, wobei die überstehende Flüssigkeit sich rasch und vollständig klärte. Die Bildung eines einheitlichen Bodenhäutchens wurde allerdings vermißt; doch ließen sich die großen Flocken auch durch kräftiges Schütteln nicht zerteilen. In den höheren Verdünnungen waren die Klumpen mehr körnig in klarer Flüssigkeit, in den letzten Verdünnungen mehr feinkörnig in trüber Flüssigkeit. Gegenüber der typischen Weil-Felixschen Reaktion war hier die Grenze zwischen positiver und negativer Reaktion vielleicht etwas weniger scharf. Aber ein so ausgesprochener Unterschied zwischen der Weil-Felixschen und der X 19-Immunreaktion, wie ihn Much und Soucek beschrieben haben, konnte hier nicht festgestellt werden.

Durch die vorliegenden Versuche ist daher bewiesen worden, daß das am Menschen künstlich durch Immunisierung mit X 19 hergestellte Serum durch 1-stündiges Erhitzen auf 56° in seiner agglutinierenden Wirksamkeit nicht leidet. Die Hitzebeständigkeit des Immunagglutinins bildet daher ein zuverlässiges Mittel zur Unterscheidung zwischen der thermolabilen Fleckfieber-(Weil-Felixschen) Reaktion und der thermostabilen Proteus-Immunserumagglutination.

Die Agglutinine werden noch bei Erhitzung auf 65° wenig verändert, bei 70° aber völlig unwirksam.

Das unerhitzte sowie das auf 56° erhitzte Immunserum sind gegenüber der auf 56° erhitzten Kultur weniger wirksam als gegenüber der unerhitzten Kultur. Die Herabsetzung der Wirksamkeit erfolgt bei beiden Seren in gleichem Maße; der Serumtiter sinkt auf etwa ein Viertel.

Ein kürzlich hier beobachteter Fall bot die erwünschte Gelegenheit, diese Ergebnisse praktisch zu erproben. Im Untersuchungsamt der Stadt Breslau (Hygienisches Institut) werden alle für die Widalsche Reaktion bestimmten Serumproben regelmäßig auf Agglutinine gegen Typhus, Paratyphus A und B, Ruhr Flexner, Shiga und Y, sowie X 19 untersucht. Bei einem aus der Universitätskinderklinik zur Ruhrdiagnose eingesandten Serum wurde eine stark positive X 19-Agglutination festgestellt. Das Ergebnis war sehr überraschend, da kein Verdachtsgrund für Fleckfieber sprach.

Es handelte sich (nach freundlicher Mitteilung von Herrn Prof. Bessau) um ein 14 Monate altes Kind, das seit 11 Monaten in poliklinischer Beobachtung, seit 3 Monaten in klinischer Behandlung sich dort befand. Das Kind litt an sehr schwerer Rhachitis, chronischem Darmkatarrh, Schnupfen und Pneumonie. Es ist 6 Wochen später gestorben. Die Sektion (Pathologisches Institut der Universität) ergab hämorrhagischen Darmkatarrh mit besonderer Beteiligung des lymphatischen Gewebes und kleine bronchopneumonische Herde.

Die Angehörigen des Kindes sollen dauernd in Breslau gewesen sein, nie an Fleckfieber-ähnlichen Krankheiten gelitten haben und wiesen sämtlich eine negative Weil-Felixsche Reaktion auf.

Der auffallende Serumbefund war am ehesten durch die Annahme einer Proteus-Infektion zu erklären. Diese war um so wahrscheinlicher, als in der Klinik während der letzten Wochen wiederholt Proteus-Infektionen beobachtet worden waren. Leider war die nach dieser Richtung hin unternommene bakteriologische Untersuchung ergebnislos. Es gelang nur, bei dem erkrankten Kinde selber aus dem Urin einen Proteus zu isolieren, der aber durch das homologe Krankenserum nicht agglutiniert wurde. Die anderen Kinder auf der Station ergaben bakteriologisch wie serologisch negativen Befund.

Trotzdem lag die Annahme einer vielleicht abgelaufenen Proteus-Infektion, die natürlich im Krankheitsbild nur eine nebensächliche Rolle gespielt haben mußte, am nächsten. Daher wurde der Erhitzungsversuch mit dem Serum in gleicher Weise, wie oben beschrieben, ausgeführt. Das Ergebnis zeigt Tabelle 2.

Auch hier war also, entsprechend dem künstlichen Menschenimmunisierungsversuch, das Serum nach Erhitzung auf 56° noch gleich wirksam gegen X 19 wie das unerhitzte; die Endverdünnung, in der noch eine Agglutination auftrat, war die gleiche, der Grad der Agglutination in dieser Endverdünung sogar in beiden Versuchsreihen beim erhitzten

Tabelle 2.

	X 19 unerhitzt	X 19, 1 h 56°
Serum unerhitzt	1: 800 ++ 1:1600 Spur 1:3200 0	1:100 Spur 1:200 0
Serum 1 h 56°	1: 800 ++ 1:1600 Spur 1:3200 0	1:100 und höhere Verdünnungen 0

Serum etwas höher als beim unerhitzten (beginnende Zerstörung von Hemmungskörpern, Agglutinoiden?).

Dagegen wurde die auf 56° erhitzte Kultur durch das unerhitzte Serum weit schwächer agglutiniert als die unerhitzte Kultur. Zwischen erhitztem Serum und erhitzter Kultur konnten bei den verwendeten Konzentrationen überhaupt keine Beziehungen nachgewiesen werden. Noch stärkere Konzentrationen als 1 : 100 anzusetzen, waren wir durch Mangel an Serum und den sehr elenden Zustand des Kindes, der eine erneute Blutentnahme verbot, verhindert.

Für praktische Zwecke scheint nach den vorliegenden Versuchen in allen zweifelhaften Fällen die gleichzeitige Anstellung der X 19-Agglutination mit unerhitztem und mit auf 56° erhitztem Krankenserum angezeigt. Eine Abschwächung der Reaktion beim Erhitzen des Serums spricht für, Konstantbleiben der Reaktion gegen Fleckfieber. Dagegen sind die Unterschiede in der Agglutination unerhitzter und auf 56° erhitzter X 19-Kultur zu wenig ausgeprägt, um für praktische Zwecke verwertbar zu sein.

Die theoretische Bedeutung dieses verschiedenen Verhaltens von Fleckfieberkrankenserum und X 19-Immunserum liegt darin, daß die Weil-Felixsche Reaktion danach nicht als eine unmittelbare Immunitätsreaktion auf Proteus X 19 aufgefaßt werden kann. Die Feststellung, inwieweit sie als eine Paragglutination betrachtet werden kann, soll das Ziel weiterer Untersuchungen sein.

Literatur.

Braun u. Salomon, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 81. 1918. S. 20. — Csépai, Wien. klin. Wochenschr. 1917. S. 1264. — Dietrich, Deutsch. med. Wochenschrift 1916. S. 1570. — Friedberger, Deutsch. med. Wochenschr. 1917. S. 1353. — Fuchs, Feldärztl. Blätt. d. k. u. k. Armee (Referat: da Rocha Lima, Ergebn. d. allg. Pathol. u. path. Anat. Bd. 19. 1919. S. 159.) — Ghon u. Roman, Verhandl. deutsch. Kongr. inn. Med. Warschau 1916. S. 172. — Hamburger u. Bauch, Deutsch. med. Wochenschr. 1917. S. 1130, 1227. — Jacobitz, München. med. Wochenschrift. 1917. S. 1576; Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 81. 1918. S. 251. — Jungmann u. Kuczynski, Deutsch. med. Wochenschr. 1917. S. 359. — Much u. Soucek, Deutsch. med. Wochenschr. 1917. S. 1191. — Oettinger, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 80. 1918. S. 304. — Weil u. Felix, Wien. klin. Wochenschr. 1916. S. 33; 1917. S. 1509. — Werner u. Leoneanu, München. med. Wochenschr. 1918. S. 1377.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über die Blutserumeigenschaften bei den tollwutschutzgeimpften Menschen.

[Aus der k. u. k. Tollwutschutzimpfstation in Krakau.]

Von Dr. **J. Kostrzewski**, k. u. k. Regimentsarzt in d. Res.

Ueber das Zustandekommen der Immunität gegen Tollwut haben wir bisher noch keine genaue Kenntnis, obwohl die Immunität die Grundlage und auch das Ziel einer Schutzimpfung bildet; die spezifische Schutzbehandlung gegen Tollwut ist daher auf das innigste an das Problem der Lyssaimmunität gebunden. Unsere Untersuchungen über die Eigenschaften des Blutes der tollwutschutzgeimpften Personen beziehen sich auf die komplementablenkende und die rabizide Wirkung des Serums.

I. Komplementablenkung.

In dieser Richtung findet man in der Literatur ziemlich viele Publikationen über Blutserumeigenschaften der tollwutkranken, bzw. der gegen Tollwut immunisierten Tiere. Die Untersuchungsergebnisse der verschiedenen Autoren sind aber nicht die gleichen, und die Erwartungen, das Komplementbindungsverfahren zum Nachweis spezifischer Stoffe bei der Lyssa in Anwendung bringen zu können, haben sich nicht erfüllt. Ueber die Komplementbindungsreaktion mit Serum der tollwutschutzgeimpften Menschen geht aus der uns zugänglichen Literatur leider nichts hervor.

Bei der Untersuchung des Blutserums tollwutschutzgeimpfter Personen sind wir in folgender Weise vorgegangen: Zur Herstellung des Antigens gebrauchten wir das Rückenmark der an Virus fixe frisch eingegangenen Kaninchen, von dem 2 g abgewogen und in einem starkwandigen Zentrifugenglas fein verrieben wurden. Hierauf wurden 10 ccm physiolog. NaCl-Lösung langsam zugetan, und durch ständiges Umrühren mit einem Glasstabe wurde aus der breiigen Masse eine homogene Aufschwemmung gebracht. Die Gewinnung des Antigens geschah immer mit sterilem Material, sterilen Gefäßen und sterilem Arbeiten. Nachdem die Aufschwemmung, im Dunkeln aufbewahrt, bei Zimmertemperatur bis zum nächsten Tage (20—22 Stunden) gestanden hatte, wurde sie (bei 2500 Umdrehungen in der Min.) 7—8 Min. zentrifugiert, wonach von dem dickbreiigen Bodensatz (welcher nicht gebraucht wurde) die trübe, milchähnlich aussehende Flüssigkeit abpipettiert wurde, die das Antigen darstellt. Letzteres wurde jedesmal frisch, 1 Tag vor dem Komplementbindungsverfahren, hergestellt und am Tage des Versuches abzentrifugiert. Die Blutentnahme von den Patienten geschah an demselben Tage, an welchem das Antigen bereitet wurde, und zwar immer vor dem Mittagsessen; nachher kamen die Blutproben in den Eiskasten, und am nächsten Tage wurde das Serum gesammelt und ½ Std. bei 56° C inaktiviert.

Geprüft auf die Komplementbindungsreaktion wurde jedes Serum in 3 parallelen Reihen, und zwar wurde in der 1. Reihe das Antigen unverdünnt, in der 2. auf 1 : 3, und in der 3. auf 1 : 5 mit physiolog. NaCl-Lösung verdünnt gebraucht. In jeder der 3 Versuchsreihen wurde Antigen in absteigenden Dosen, zu 0,3, 0,2 und 0,1 ccm, das untersuchte Serum aber immer zu 0,2 ccm verwendet. Gleichzeitig mit der Komplementbindungsreaktion wurde das Antigen in der Menge von 0,3 und 0,6 ccm in seinem Verhalten auf die Blutkörperchen und das hämolytische System geprüft, wobei kein einziges Mal weder die Blutkörperchen, noch das hämolytische System beeinträchtigt wurden. Vom Ambozeptor wurde beim Hauptversuche das 5-fache der einzellösenden Dosis, vom Komplement die kleinste austitrierte (bei der einfachen Ambozeptordosis, bei 1 ccm der 5-proz. Hammelblutkörperchenaufschwemmung und 30' langem Stehen bei 37° C) gebraucht. Das Gesamtvolumen, mit welchem man arbeitete, war 3 ccm; vor der Zugabe des hämolytischen Systems kam das Gemisch von Antigen, Serum und Komplement auf 1 Std. in den Brutkasten; die Ablesung des Versuches erfolgte zum

1. Male, nachdem sämtliche Kontrollen hämolysiert haben, das 2. Mal am nächsten Tage.

Im ganzen wurden auf die Komplementbindungseigenschaften Sera von 59 tollwut-schutzzuimpfenden, bzw. -schutzgeimpften Personen untersucht, und zwar wurde das Serum von 8 Personen am Ende und nach der Behandlung geprüft. Von den übrigen 51 wurden wieder 8 Sera nur 1mal, und zwar vor der Behandlung, geprüft; mit Ausnahme der letzten 8 Sera wurden die Blutproben eines und desselben Patienten 2, 3 und mehrere Male in verschiedenen Zeitintervallen, d. h. vor, während und nach der Behandlung, untersucht. Bei der Blutentnahme von Patienten, bei denen die Behandlung abgeschlossen war, haben wir uns an keinen bestimmten Termin gehalten. Die Blutproben waren entnommen am letzten Tage der Behandlung in 56 Proz., am 2. in 13,7 Proz., am 3. in 15 Proz., am 4.—10. Tage nach Abschluß der Behandlung in 15,2 Proz. der untersuchten Fälle. Von den 59 schutzgeimpften Personen waren 31 nach Pasteur und 28 nach Högyes behandelt; das Pasteursche Verfahren bestand in 1-, manchmal auch 2mal täglich stattfindender Einspritzung der 20-proz. Aufschwemmung eines 3, 2 und 1 Tag alten, virushaltigen Rückenmarkes. Je nach dem Falle, wurden von solchen Einspritzungen (2 ccm der genannten Rückenmarksaufschwemmung) 21—40 einverleibt; bei der Högyesschen Dilutionsmethode wurde 20mal das schwächere und 8mal das stärkere Schema angewendet.

Bei den Komplementbindungsversuchen haben wir folgende Resultate erhalten:

a) 16 Sera waren vor und nach der Behandlung negativ:
1 Serum vom Pat., der nach Pasteur behandelt wurde,
15 Sera von solchen, die nach Högyes behandelt wurden.
b) 15 Sera waren vor der Behandlung negativ, nach der Behandlung positiv:
13 Sera von Pat., die nach Pasteur behandelt wurden,
2 „ „ „ „ „ Högyes „ „
c) 12 Sera waren vor und nach der Behandlung positiv:
3 Sera von Pat., die nach Pasteur behandelt wurden,
9 „ „ „ „ „ Högyes „ „
d) 3 Sera waren vor der Behandlung positiv und wurden nach der Behandlung nicht untersucht.
e) 5 Sera waren vor der Behandlung negativ und wurden nach der Behandlung nicht untersucht, und
f) die oben erwähnten, während und nach der Behandlung positiven 8 Sera, die vor der Behandlung nicht untersucht wurden:
6 Sera von Pat., die nach Pasteur behandelt wurden,
2 „ „ „ „ „ Högyes „ „

Aus dem unter a) und b) Gesagten geht hervor:

Auf 14 Personen, die nach Pasteur behandelt waren, traten nach der Behandlung im Blutserum bei 13 von ihnen komplementablenkende Eigenschaften hervor, während von 17, die nach Högyes behandelt wurden, nach der Behandlung nur bei 2 Personen das Serum die genannte Eigenschaft zeigt. Aus dem unter c) und d) Angeführten ersieht man, daß in 29,4 Proz. der untersuchten Fälle das Serum der nichtbehandelten Personen die Komplementablenkung bewirkt, doch besteht ein großer Unterschied in der Stärke der positiven Reaktion des Serums der unbehandelten und der tollwutschutzgeimpften Personen. Das positive Serum der unbehandelten Personen reagiert nur in der 1. Untersuchungsreihe, d. h. mit unverdünntem Antigen, wogegen die positiven Sera nach der Pasteurschen Behandlung sehr stark reagieren (+++), und zwar nicht nur mit dem unverdünnten Antigen, sondern auch mit der Antigenverdünnung 1:3 (57,7 Proz.) und mit 1:5 (31,5 Proz.); von den 4 positiven Blutproben gibt nach der durchgeführten Högyesschen Behandlung nur 1 Serum positive Reaktion (++) mit der Antigenverdünnung 1:3; mit Antigenverdünnung 1:5 aber keines. — Alle 59 Sera wurden auch auf die Wassermannsche Reaktion geprüft, wobei wir folgendes festgestellt haben:

Auf die 38 positiven mit Rückenmarkantigen-Sera war die Wa. R. mit einem Antigen („alt") in 44,7 Proz., mit dem anderen (No. 8) in 16 Proz.; bei 21 mit Rückenmarkantigen negativen Sera aber mit Antigen „alt" in 19 Proz., mit Antigen No. 8 in 4,7 Proz. positiv ausgefallen. Von den 2 Antigenen war das „alte", alkoholische Luesleberextrakt, Antigen No. 8 wieder, alkoholischer Extrakt aus Meerschweinchenherzen mit Cholestearinzusatz. Die seit Monaten gebrauchten Antigene gaben bei manifester Lues gleiche Resultate, wogegen bei latenter das spezifische Antigen entschieden mehr positive Resultate zeigte.

Aus der hohen Prozentzahl von positiver Wa. R. bei den positiven auf Rückenmarkantigen im Vergleich zu der Zahl der positiven Wa. R. bei den negativen auf Rückenmarkantigenseris dürfen wir jedoch keine Schlüsse ziehen, und zwar deswegen, weil die schutzgeimpften Personen weder untersucht, noch ausgefragt worden waren quoad Syphilis. Es muß aber hervorgehoben werden, daß die Stärke der positiven Serumreaktion mit Rückenmarkantigenen mit der positiven oder negativen Wa. R. des betreffenden Serums in keinem Zusammenhange steht.

Die Häufigkeit der positiven Wa. R. bei den mit Rückenmarkantigen positiven Seris veranlaßte uns zur Untersuchung der sicher luetischen Blutproben auf die Komplementbindungsreaktion mit Rückenmarkantigen. Von den 10 geprüften Seris verursachten 3 Komplementablenkung mit Rückenmarkantigen in der 1. Untersuchungsreihe.

Wie lange Zeit ein Serum, die erworbene Eigenschaft, mit Rückenmarkantigen positiv zu reagieren, beibehalten kann, darüber haben wir keine große Erfahrung; in dieser Richtung wurden daher Sera von 4 Patienten geprüft, und zwar zeigen 2 Sera, die 48—51 Tage nach erfolgter Schutzimpfung untersucht wurden, denselben Titer der positiven Reaktion, d. h. ++ mit der Antigenverdünnung von 1:3, welchen sie gleich nach der Behandlung zeigten. Vor der Behandlung sind die Sera nicht untersucht worden; aus der Stärke der Komplementbindungsreaktion aber glauben wir annehmen zu dürfen, daß vor der Schutzimpfung die Komplementbindungseigenschaften nicht bestanden. 2 andere Sera, die 4—8 Tage nach der Behandlung sehr stark positiv +++ mit 1:5 Antigenverdünnung reagierten, gaben 42 Tage später untersucht, + bzw. ++ nur in der 1. Untersuchungsreihe, d. h. mit unverdünntem Antigen; nach 30 neuen Injektionen (der schweren Verletzungen wegen waren diese Personen der 2. Schutzimpfung unterzogen worden) haben die Sera wieder positiv, und zwar ebenso stark, wie nach der 1. Behandlung reagiert.

Unsere Ausführungen über Komplementablenkung haben folgende wichtige Ergebnisse gehabt:

1) Im Serum der nach Pasteur behandelten Personen lassen sich starke, komplementablenkende Eigenschaften nachweisen, welche das Serum vor der Behandlung nicht besaß.

2) Die Behandlung nach Pasteur verursacht in weit höherem Grade das Hervortreten der Antikörper, als die Methode nach Högyes, was leicht verständlich ist, da durch die Behandlung nach Pasteur bedeutend mehr Rückenmarksubstanz einverleibt wird, als mit der Dilutionsmethode nach Högyes (dabei bleibt aber die Zeitdauer der einen und der anderen Behandlungsart unberücksichtigt.)

3) Die Komplementbindungseigenschaften des Serums konnten wir sofort und in den allerersten Tagen nach erfolgter Schutzimpfung konstatieren.

II. Rabizide Serumeigenschaften.

Das normale Serum des Menschen und der Säugetiere besitzt keine rabiziden Eigenschaften; die spezifischen Substanzen treten erst nach Vorbehandlung mit virushaltigem Material auf. Untersuchungen über rabizide Serumeigenschaften bei tollwutschutzgeimpften Menschen verdanken wir R. Kraus und B. Kreisl. Die Behandlung nach Pasteur dauerte bei den von ihnen untersuchten Fällen 14 Tage, und zwar wurden täglich folgende Emulsionen des Virus fixe subkutan injiziert: 8 + 7, 6, 5, 5, 4, 3, 3, 5, 5, 4, 4, 3, 3, und 2-tägiges Mark je $^1/_2$ cm in 3 ccm physiolog. NaCl-Lösung. Auf Grund ihrer Experimente kommen die genannten Autoren unter anderen zu folgenden Schlußfolgerungem:

„III. Das Serum der Menschen enthält sofort nach erfolgter Schutzimpfung nach Pasteur keine Schutzstoffe.“

„IV. Am 22. Tage nach vollendeter Schutzimpfung lassen sich im Serum geimpfter Menschen sicher Schutzstoffe gegen Wutvirus nachweisen, doch variieren sie bei verschiedenen Menschen in ihren Werten.“

„V. Die Schutzstoffe lassen sich auch längere Zeit nach erfolgter Impfung nachweisen.“

Bevor wir unsere in dieser Richtung gewonnenen Resultate wiedergeben, schildern wir zuerst den Untersuchungsgang: Von dem Gehirn eines an Virus fixe frisch gefallenen Kaninchens wurde 1 g Substanz abgewogen und in einem starkwandigen Zentrifugenglas mit 9 ccm physiologischer NaCl-Lösung zu einer sehr feinen und homogenen Aufschwemmung zerrieben, die 7—8 Min. (2500 Umdrehungen in der Minute) zentrifugiert wurde. Danach wurde die oberhalb des Bodensatzes angesammelte, trübe, milchähnliche Flüssigkeit abpipettiert; zu gleicher Zeit wurde von den zu untersuchenden Pat. das Blut entnommen. Das nach der Blutgerinnung gewonnene Serum und die abpipettierte Flüssigkeit wurden zusammengebracht, und zwar: a) 0,5 ccm Serum + 1 ccm $^1/_{10}$ Verdünnung der abpipettierten Flüssigkeit (1-proz. Gehirnemulsion); dieses Gemisch nennen wir „Virusserumgemisch A“, b) 2 ccm Serum + 0,5 ccm der abpipettierten Flüssigkeit (10-proz. Gehirnemulsion) „Virusserumgemisch B“. Beide Gemische wurden im Dunkeln bei Zimmertemperatur bis zum nächsten Tage gehalten. Nachdem Virus und Serum 24 Std. lang aufeinander eingewirkt hatten, injizierte man von dem Gemische ca. 0,2—0,3 ccm Kaninchen subdural, und zwar wurden immer je 2 Kaninchen mit dem „Virusserumgemisch A“ und je 2 andere mit dem „Virusserumgemisch B“ jeder geprüften Blutprobe injiziert. Die Versuchstiere, die die Infektion überstanden haben, blieben 90 Tage in Beobachtung. In dieser Weise haben wir das Blutserum von 6 Personen untersucht, von denen 2 Sera je 2mal, 2 andere je 3mal geprüft wurden. Was die in unserer Station gepflegte Wutschutzbehandlung anbelangt, so wurde dieselbe gelegentlich der Komplementbindungsversuche besprochen. Wir führen die Versuche an:

26. Jan. 1918.

1) J. B. Die Blutprobe wurde 52 Tage nach Beendigung der Schutzimpfung entnommen; dieselbe dauerte 34 Tage. Innerhalb dieser Zeit wurden 30 Injektionen eines 3-, 2- und 1-tägigen Markes einverleibt; Pat. hatte schwere Lähmungserscheinungen (infolge Tollwutschutzimpfung) durchgemacht, die am Tage der Blutentnahme noch nicht ganz zurückgetreten waren. Die Komplementbindungseigenschaften des Serums, 48 Tage nach erfolgter Schutzimpfung untersucht, sind oben bereits besprochen worden.

Der Tierversuch ergab:

3 Kaninchen gingen an Lyssa in 7—9 Tagen ein, 1 Kaninchen ist nach 90 Tagen gesund „Versuchsserumgemisch A“.

2) P. A. (1. Serumuntersuchung) erhielt 40 Injektionen eines 3-, 2- und 1-tägigen Markes binnen 34 Tagen; die Blutprobe wurde 8 Tage nach der letzten Injektion entnommen. Tierversuch: 3 Kaninchen sind an Lyssa nach 8—11 Tagen gefallen, 1 Kaninchen „Versuchsserumgemisch A“ war nach 90 Tagen gesund.

3) M. O. (1. Serumuntersuchung) erhielt in 30 Tagen 36 Injektionen eines 3-, 2- und 1-tägigen Markes, und zwar war das Blut 12 Tage nach der letzten Injektion entnommen worden. Tierversuch: 1 Kaninchen ist nach 63 Tagen unter Kachexiesymptomen gefallen „Versuchsserumgemisch A“; im Tierversuch keine Lyssa nachgewiesen; die übrigen 3 Kaninchen sind nach 90 Tagen gesund.

4) M. K. unbehandelt; Tierversuch: alle 4 Kaninchen sind in 7—8 Tagen an Lyssa gefallen.

Kontrolltiere: 1 Kaninchen mit $^1/_{200}$ und 2 Kaninchen mit $^1/_{500}$ Gehirnemulsion injiziert, sind in 8—9 Tagen an Lyssa gefallen; 1 Kaninchen mit $^1/_{1000}$ Gehirnemulsion ist nach 90 Tagen gesund.

2. März 1918.

2a) A. P. Das Serum wird zum 2. Male untersucht, 43 Tage nach Abschluß der Behandlung. Tierversuch: 1 Kaninchen an Lyssa in 9 Tagen gefallen „Versuchsserumgemisch B“, 1 Kaninchen an Lyssa nach 45 Tagen eingegangen „Versuchsserumgemisch A“, 2 andere Kaninchen nach 90 Tagen gesund.

3a) M. O. Das Serum wird zum 2. Male untersucht, 47 Tage nach erfolgter Schutzimpfung; Tierversuch: 2 Kaninchen „Versuchsserumgemisch B“ an Lyssa in 7 bis 10 Tagen, 1 Kaninchen an Pneumonie nach 46 Tagen gefallen, 1 Kaninchen „Versuchsserumgemisch A“ nach 90 Tagen gesund.

5) S. S., vor der Behandlung. Tierversuch: 1 Kaninchen 24 Std. nach der Impfung infolge erlittener Gehirnverletzung bei der Trepanation, 3 Kaninchen in 7—8 Tagen an Lyssa zugrunde gegangen.

6) M. J., vor der Behandlung. Tierversuch: alle Kaninchen in 6—7 Tagen an Lyssa gefallen.

Kontrolltiere: 1 Kaninchen mit $^1/_{200}$, je 2 Kaninchen mit $^1/_{500}$ und $^1/_{1000}$ Gehirnemulsion injiziert, sind in 7—8 Tagen an Lyssa eingegangen; höhere Virusverdünnungen wurden nicht untersucht.

30. März 1918.

2b) A. P. Das Serum wird zum 3. Male untersucht; die Blutprobe wurde 7 Tage nach der Durchführung der 2. Tollwutschutzimpfung entnommen, die aus 30 Injektionen des 3, 2, und 1 Tage alten Markes innerhalb 18 Tagen bestand. Tierversuch: 2 Kaninchen „Versuchsserumgemisch B“ in 9—10 Tagen an Lyssa gefallen; 2 „Versuchsserumgemisch A“ nach 90 Tagen gesund.

2b) M. O., das Serum wird zum 3. Male untersucht; die Blutprobe 7 Tage nach Abschluß der 2. Schutzimpfung entnommen; es wurden 30 Injektionen eines 3-, 2- und 1-täg. Markes in 18 Tagen einverleibt. Tierversuch: 3 Kaninchen an Lyssa in 9 bis 10 Tagen gefallen, 1 „Versuchsserumgemisch B“ nach 90 Tagen gesund.

5a) S. S. Das Serum zum 2. Male untersucht; die Blutprobe wird 7 Tage nach erfolgter Behandlung entnommen; sie bestand aus 27 Injektionen eines 3-, 2 und 1-täg. Markes innerhalb 27 Tagen. Tierversuch: 1 Kaninchen „Versuchsserumgemisch A“ in 10 Tagen an Lyssa gefallen; die übrigen 3 nach 90 Tagen gesund.

6a) M. J. Das Serum wird zum 2. Male untersucht; die Blutprobe wird 7 Tage nach Abschluß der Schutzimpfung entnommen, und zwar wurden 27 Injektionen eines 3-, 2- und 1-täg. Markes binnen 27 Tagen appliziert. Tierversuch: 1 Kaninchen „Versuchsserumgemisch B“ an Lyssa in 10 Tagen gefallen; die übrigen 3 nach 90 Tagen noch gesund.

Kontrolltiere: je 2 Kaninchen, mit $^1/_{500}$, $^1/_{1000}$ und $^1/_{1500}$ Gehirnemulsion (Gehirnemulsion = das zum Virusserumgemisch gebrauchte Zentrifugat) injiziert, sind an Lyssa in 8—10 Tagen gefallen, mit Ausnahme eines der Versuchstiere, die mit $^1/_{1000}$ Gehirnemulsion geimpft wurden; dieses Kaninchen hat bei der Injektion sehr stark geblutet; wahrscheinlich wurde das Wutvirus durch das Blut weggeschwemmt. Höhere Virusverdünnungen wurden nicht untersucht.

Die auf rabizide Eigenschaften geprüften Sera wurden auch auf die Komplementablenkung untersucht; sämtliche Blutproben waren nach der Behandlung stark positiv +++ noch mit 1 : 5 Antigenverdünnung, ausgenommen das Serum J. B., welches ++ mit 1 : 3 Antigenverdünnung zeigte. Vor der Behandlung verursachte nur das Serum M. J. schwache

Komplementablenkung mit unverdünntem Antigen, die übrigen Sera waren negativ; die Sera A. P. und M. O., untersucht auf Komplementablenkungseigenschaften vor dem 2. Tierversuch, gaben + bzw. ++ mit unverdünntem Antigen.

Die Tierversuche ergeben, daß wir starke rabizide Eigenschaften des Menschenserums 7 Tage nach erfolgter Tollwutschutzimpfung festgestellt haben.

Besprechung der Untersuchungsergebnisse.

Wir haben bereits darauf hingewiesen, daß wir in den Mechanismus der Immunität gegen Tollwut keinen genügenden Einblick haben. Ob die Tollwutimmunität auf dem Vorhandensein der Schutzstoffe im Serum beruht. oder ob sie histogener Natur ist, oder ob hier beide Arten der Immunität in Betracht kommen, und zwar im Anfang nach der Immunisierung die Schutzstoffe des Serums, nachher aber die histogene Immunität, darüber sind die Ansichten geteilt. Den Eintritt der Immunität rechnet man in den Beginn der 3. Woche nach Abschluß der Immunisierung; diese, auf Grund des Tierexperimentes gewonnene Tatsache hat man auch auf den Menschen übertragen; infolgedessen besteht in den Pasteurschen Anstalten der Brauch, nur diese Todesfälle als Mißerfolge der Schutzimpfung anzusehen, bei welchen die Wut später als 2 Wochen nach Abschluß der Schutzimpfung ausgebrochen ist. Nur Nitsch ist in seinen „Bemerkungen über die Pasteursche Schutzimpfung gegen Tollwut“ mit der üblichen Art der Statistik nicht einverstanden; er glaubt: „daß nur solche Fälle als unrettbar betrachtet werden sollen, wo die Krankheit spätestens 10 Tage nach Anfang der Kur ausbricht“. Dabei beruft er sich auf einige Experimente Pasteurs und Bardachs, die in diesem Sinne sprechen.

Heller und Tomarkin aber, entsprechend der herrschenden Auffassung über den Zeiteintritt der Immunität, haben in ihren Untersuchungen über Komplementbindungsreaktion mit Serum der gegen Tollwut immunisierten Tiere die Blutproben erst 2 Wochen nach erfolgter Behandlung untersucht. Kraus und Kreisl wieder haben sofort keine, aber erst 22 Tage nach Abschluß der Tollwutschutzimpfung im menschlichen Serum rabizide Substanzen nachgewiesen. Wir dagegen, in unseren oben dargestellten Versuchen, haben:

1) Komplementbindungseigenschaften sofort und 2) starke rabizide Eigenschaften 7 Tage nach Abschluß der Tollwutschutzimpfung (zeitiger wurde nicht untersucht), im Menschenserum gefunden. Diese von uns festgestellte Tatsache steht im Widerspruch mit den bisherigen Untersuchungsresultaten über das Hervortreten der Antikörper gegen Lyssa. Die Ursache davon sehen wir in der von uns geübten Behandlungsart: Wir haben sehr intensiv und mit sehr wenig getrocknetem Material (3-, 2- und 1-tägiges Mark) immunisiert. Bekanntlich immunisiert am kräftigsten vollvirulentes Material; also muß auch gegen Tollwut mit einem um so früheren Eintritt einer vollen Immunität gerechnet werden, je eher und je mehr vollvirulentes Material gegeben wird. — Aus unseren Untersuchungsresultaten dürfen wir folgendes bezüglich der Tollwutschutzbehandlung schließen:

1) Die Komplementablenkungsversuche lehren: Das Hervortreten der Antikörper wird entschieden stärker hervorgerufen durch die Behandlung nach Pasteur, als durch die Dilutionsmethode nach Högyes;

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

da wieder beim Zustandekommen der Immunität gegen Lyssa nicht nur Virus, sondern auch Toxine, nach Untersuchungen von Babes und Fermi auch das normale, nicht nur virushaltige Mark, mitwirken, ist die Schutzimpfung nach Pasteur der Dilutionsmethode nach Högyes vorzuziehen.

2) In den Komplementbindungsversuchen haben wir das Hervortreten der Antikörper sofort, im Tierversuch das Vorhandensein der spezifischen Schutzstoffe 7 Tage nach erfolgter Tollwutschutzimpfung im Menschenserum nachgewiesen. Sollte noch der Beweis erbracht werden, daß das Auftreten der rabiziden Substanzen im Blutserum und der Eintritt der Immunität gegen Lyssa identisch sind, so müßten dann die Todesfälle, die nach einer intensiven und mit wenig getrocknetem Mark durchgeführten Tollwutschutzimpfung sich ereignen, anders als bisher beurteilt werden.

Literatur.

Centani, Deutsch. med. Wochenschr. 1893.
Dobrowolskaja, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 56.
Fermi, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 46.
Friedberger, Wien. klin. Wochenschr. 1907.
Heller u. Rothenmundt, Wutschutzimpfung und Wutimmunität. (**Kolle-Wassermann**, Handb. d. pathog. Mikroorgan. 1913.)
Heller u. Tomarkin, Deutsch. med. Wochenschr. 1907.
Kraus u. Kreisl, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 32.
Kotzewaloff, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 57.
Marx, Lyssaimmunität. (**Kolle-Wassermann**, Handb. d. pathog. Mikroorgan. 1904.)
Nitsch, Medycyna. 1907. [Poln.].
— Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 43.
Palmirski u. Karlowski, Wodowstręt u ludzi. Monographie. [Poln.] 1911.

Krakau, am 30. Aug. 1918.

Nachdruck verboten.

Ueber den Einfluss des Bakterientoxins auf das leukozytäre Blutbild bei Typhusbazillenträgern.

[Aus dem Staatlichen Institut für Hygiene und Infektionskrankheiten in Saarbrücken (Direktor: Prof. Dr. Hilgermann).]

Von **Gerhard Wodtke**, Assistenten des Instituts.

Seitdem durch die grundlegenden Arbeiten von Ehrlich, Rieder, Türk, Arneth und Nägeli Licht in das Dunkel der leukozytären Blutforschung getragen wurde, ist auch der Einfluß der Bakterientoxine auf das Blutbild wohlbekannt geworden. Charakteristisch ist das Verhalten der weißen Blutzellen bei Typhus abdominalis (Nägeli, 1): 1) die nach einer anfänglichen, ganz kurzen Leukozytose auftretende Leukopenie, ferner die bis zum Fieberabfall dauernde Verminderung der Neutrophilen, 3) das meist völlige, schlagartige Verschwinden der Eosinophilen und endlich der mit dem Auftreten des Fieberabfalls einsetzende Anstieg der Lymphozyten. Dieser Lymphozytenanstieg, der im Hinblick auf die folgenden Ausführungen besonderes Interesse verlangt, führt nach der voraufgegangenen, im Einklang mit der allgemeinen Leukopenie erfolgten Abnahme der Lymphzelien, oft zu ihrer sehr erheblichen, von

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Eosinophylie begleiteten Vermehrung und äußert sich in der graphischen Darstellung durch die charakteristische Kreuzung der Lymphozyten- und Neutrophilenkurve.

Zur Erklärung der diagnostisch wichtigen, allgemeinen Leukopenie wird von den meisten Autoren, Nägeli (2), Arneth (3), Askanazy (4), Decastello und Hofbauer (5), Kast und Gütig (6), eine durch das Typhustoxin bedingte biologische Aenderung in der Funktion der blutbildenden Organe angenommen, und zwar eine Hemmung der Zellbildung. Die Berechtigung zu der Annahme einer toxogenen Entstehung des Blutbildes wurde durch das Tierexperiment gebracht. So gelang es Studer (7), Azzurini und Massart (8), Lavatelli (9) und Lucibeili (10), durch Behandlung mit Typhustoxin bei Tieren eine völlig gleiche Leukopenie, wie die des menschlichen Abdominaltyphus, hervorzurufen. Auch Arneth (3) berichtet von ähnlichen Erfolgen an Kaninchen. Einen ferneren Beleg für die Richtigkeit dieser Anschauung bilden auch die von Ickert (11), Lipp (12), Stieve (13), Dreyfuss (14), Hage und Korff-Petersen (15), Römer (16), Schneider (17), Ziersch (18), Luksch (19) und Arthur Meyer (20) vorgenommenen Untersuchungen an Typhusschutzgeimpften, bei denen das einverleibte Gift dem akuten Typhus homologe Erscheinungen im Blutbild hervorrief, insbesondere auch häufig eine ausgesprochene Leukopenie.

Die Theorie der durch das Toxin bedingten biologischen Aenderung in der Funktion der blutbildenden Organe andererseits wird durch wichtige, zuerst von E. Fränkel (21) an Typhusleichen erhobene Befunde gestützt. Dieser Forscher konnte im Knochenmark solcher Leichen häufig Nekrosen typhösen Ursprungs nachweisen, deren Umgebung jede leukozytäre Reaktion vermissen ließ, ein Beweis für die funktionelle Hemmung der Zellbildung.

Die Frage der Lymphozytose und der Eosinophylie, die sich im Verlaufe einer Typhuserkrankung einzustellen und auch nach deren Ablauf noch längere Zeit anzuhalten pflegen, wird dagegen nicht durch direkte Einwirkung des Toxins erklärt. Es besteht vielmehr die Auffassung einer hier, wie nach den meisten Infektionskrankheiten und Intoxikationen, gesetzmäßig auftretenden Eosinophylie und Lymphozytose, von denen Nägeli (2) die letztere durch eine frühzeitige Erholung des lymphatischen Apparates bei noch bestehender funktioneller Schwäche des myeloischen Gewebes erklärt. Sämtliche Leukozytenwerte kehren, wie von allen Autoren übereinstimmend angegeben wird, früher oder später nach Verschwinden der Toxine aus dem Körper allmählich wieder zur Norm zurück.

Angesichts dieser Umstände lag es nahe, eine Anzahl von chronischen Typhusbazillenträgern, deren Organismus das Toxin seit langer Zeit, vielleicht seit vielen Jahren, enthalten kann, auf das Verhalten der weißen Blutkörperchen zu untersuchen. Diese besonders von Lentz (22) in ihrer epidemiologischen Bedeutung gewürdigten Personen bieten bekanntlich subjektiv keinerlei klinische Erscheinungen einer Typhuserkrankung dar. Objektiv wird neben den durch die gebräuchlichen Kulturverfahren in den Ausscheidungen nachweisbaren, von Ebeling (23), Busse (24) sogar vereinzelt im Blut gefundenen Typhuserregern, das Auftreten einer positiven Widalschen Reaktion beobachtet, ein Beweis dafür, daß die im Körper wohnenden Bakterien diesen dauernd zur Bildung spezifischer Antikörper, der Agglutinine, anzuregen imstande sind. Diese Tatsache, daß der Bakterienleib trotz seines langen Verweilens in dem gleichen Individuum dauernd als Antigen zu wirken vermag, gibt uns die Berechtigung, zu vermuten, es könnte auch das durch den Zerfall der Bakterien entstehende Toxin wie beim akuten Typhus, so beim Bazillenträger das leukozytäre Blutbild beeinflussen.

Voraussetzung für einwandfreie Ergebnisse ist zunächst, daß zur Untersuchung nur wirkliche Bazillenträger gelangen und nicht sogenannte temporäre Ausscheider, d. h. Personen, deren Bazillenausscheidung zwar nach der Erkrankung noch längere Zeit andauert, bei denen dann aber völlige, d. h. „bakteriologische“ Genesung eintritt. Im Gebiet der im bisherigen Südwesten des Reichs systematisch gepflegten Typhusbekämpfung konnten sich die Blutuntersuchungen auf eine Anzahl seit langer Zeit bekannter Bazillenträger erstrecken.

Von Wichtigkeit ist ferner, daß bei den Untersuchten nicht nebenher andere organische Krankheiten bestehen, deren Vorhandensein etwaige Abweichungen des Blutbildes bedingen könnte. Schon **Sahli** (25), **Schottmüller** (26) u. a. weisen darauf hin, daß auch beim akuten Abdominaltyphus Komplikationen typhösen Ursprungs sich im Blutbild bemerkbar machen können. Diese Forderung erfüllen die sämtlichen untersuchten Bazillenträger. Zwar bestand in einem Falle (No. 12 der Tabelle I) eine leichte Spitzentuberkulose, doch kann diese nach **Nägeli** als beachtenswerter Faktor für eine mögliche Aenderung des Blutbildes kaum in Betracht kommen. Eine Reihe von 8 Fällen stammte aus der Heil- und Pflegeanstalt Homburg i. d. Pfalz [Tab. I, No. 2, 6, 12, 13, 14, 15, 16, 18[1])]. Bei sämtlichen handelt es sich ausnahmslos um leichte geistige, nicht organische Erkrankungen, gegen deren Heranziehung zu den Untersuchungen keinerlei Bedenken bestanden. Bei einer weiteren Untersuchten war ein Herzfehler nachweisbar, bei mehreren bestanden chronische Gallensteinleiden, die wohl mit der Ansiedelung der Typhusbazillen in der Gallenblase im Zusammenhang stehen. Auch diese Befunde können nicht nennenswert das Blutbild beeinflussen.

Die Herstellung der Ausstrichpräparate vollzog sich in der üblichen, vorgeschriebenen Weise durch Einstich in die Fingerbeere oder in das Ohrläppchen. Die Färbung der Präparate erfolgte nach der von **Pappenheim** angegebenen Kombination der **May-Grünwald**- mit nachfolgender **Giemsa**-Färbung. Um richtige Ergebnisse zu erzielen, wurden bei der erstmaligen Untersuchung eines jeden Bazillenträgers 1000 weiße Blutzellen aus verschiedenen Präparaten ausgezählt. Bei den über mehrere Wochen fortgeführten Untersuchungen einzelner Bazillenträger wurde dann für die Folge die jedesmalige Durchzählung von 500 Leukozyten für genügend erachtet. Letztere geschah nach den von **Arneth** (27) aufgestellten Gesichtspunkten, allerdings nicht in der ursprünglich von ihm vorgeschlagenen Form der Einteilung der normalen Neutrophilen. **Arneth** gliederte diese, entsprechend der Anzahl ihrer Kernsegmente, in 5 Klassen. Nachdem man erkannt hatte, daß nicht der Grad der Segmentbildung, sondern die Tendenz dazu maßgebend für die Kernbewertung wäre, wurde von **Pappenheim** eine Modifikation der **Arneth**schen Einteilung in Vorschlag gebracht, die von **Viktor Schilling** (28) in die Praxis eingeführt wurde. Nach dieser Modifikation werden die Neutrophilen in **Myelozyten**, **Metamyelozyten**,

---

[1] Den Herren Aerzten der Heil- und Pflegeanstalt Homburg, Sanitätsrat Dr. **Holderbach**, Oberarzt Dr. **Pittrich** und Dr. **Pfannmöller** spreche ich auch an dieser Stelle für das der Arbeit entgegengebrachte freundliche Interesse meinen besten Dank aus.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Stabkernige und Segmentkernige eingeteilt, wobei unter Stabkernigen die auch im normalen Blutbild vorkommenden Neutrophilen mit nicht segmentiertem Kern zu verstehen sind. Umstehende Tabelle enthält die Untersuchungsergebnisse von 20 Bazillenträgern. Die Prozentzahlen im Kopf der Tabelle geben nach Schilling (28) die Durchschnittszahlen der einzelnen Arten weißer Blutzellen im normalen Blutbild wieder.

Betrachtet man im einzelnen die gewonnenen Resultate, so findet man zunächst, daß die Gesamtzahl der Leukozyten sich bei den meisten der daraufhin untersuchten Fälle innerhalb oder in der Nähe der normalen Grenzen hält. Doch kamen sowohl nach oben wie nach unten vereinzelt auch stärkere Abweichungen vor. Es ist jedenfalls daraus ersichtlich, daß dem Blutbild des Typhusbazillenträgers keine einseitige, charakteristische Vermehrung oder Verminderung der weißen Blutzellen zukommt, wie wir sie z. B. in dem leukopenischen Stadium beim akuten Typhus vor uns haben. Leider ist es nicht möglich gewesen, in allen Fällen die Feststellung der Leukozytenzahl vorzunehmen, weil es bei den heutigen Verkehrsverhältnissen nicht angängig war, auswärts wohnende oder auf dem Lande lebende Keimträger mit dem Mikroskop und dem sonstigen dazu erforderlichen Instrumentarium aufzusuchen.

Unter den einzelnen Arten der Blutzellen zeigen die basophilen in ihren Werten, abgesehen von dem vollständigen Fehlen in einem Falle, keine wesentlichen Abweichungen von der Norm. Die Zahlen der Eosinophilen weisen mehrfach leichte Steigerungen auf; in einigen Fällen

Tabelle I.

No.	Name und Alter	Gesamtzahl der Leukozyten	Basophile	Eosinophile	Myelozyten	Neutrophile			Kleine Lymphozyten	Große Lymphozyten	Gesamtsumme der Lymphozyten	Große Mononukleäre und Uebergangsformen
						Metamyelozyten	Stabkernige	Segmentkernige				
			1 %	3 %			4 %	63 %			23 %	6 %
1	B., Maria, 48 J.	4750	0,9	4,7	0,1	—	6,0	60,0	10,9	11,7	22,6	4.8
2	A., Clementine, 43 J.	*	0,4	9,5	—	0,2	3,6	55,3	17,3	8.2	25,5	5,5
3	Sch., Emma, 42 J.		0,4	4,0	—	0,3	3,0	61,3	9,9	16,4	26,3	4,7
4	K., Charlotte, 55 J.	7100	0,4	2,3	—	0,3	3,3	60,5	20,1	7.8	27,9	5,3
5	M., Elise, 58 J.		0,4	2,5	—	0.9	4,8	55,2	10,9	19,8	30,7	5,5
6	Sch., Heinrich, 62 J.	*	0,1	3,8	—	0,1	7.0	51,1	21,4	11,5	32,9	5,0
7	H., Rosine, 30 J.	8500	0,9	3,6	0,3	0,2	2 9	56,3	24,8	8,1	32,9	2,9
8	Ue., Mathias, 60 J.	7370	0,6	1,3	—	0,1	1,6	55,0	21,0	12,5	33,5	7,9
9	W., Wilhelm, 42 J.	5600	0,1	3,0	—	—	2,0	56,7	7,2	26,5	33,7	4,5
10	M., Sofie, 51 J.	9550	0,1	9,0	—	—	1,6	51,2	26,3	8,1	34,4	8,7
11	Sch., Caroline, 40 J.	6500	—	3,2	—	0,2	2,2	52,0	32,5	5,1	37,6	4,8
12	J., Susanne, 61 J.	*	0,5	3,0	—	0,1	1,4	49,7	27,6	10,8	38,4	6,9
13	D., Friederike, 32 J.	*	0,3	2,9	0,1	—	0,8	52,2	23,1	16,4	39,5	4,2
14	H., Auguste, 47 J.	*	0,3	2,9	—	0,1	4,8	47,5	29,2	11,2	40,4	4,0
15	H., Elise, 54 J.	*	0,8	9,0	—	0,1	1,8	43,0	31,6	9,0	40,6	4,7
16	T., Maria, 49 J.	6300	0,1	2,1	0,1	—	8,3	41,2	31,5	12.0	43,5	4,7
17	Qu., Marg., 57 J.	5350	0,2	3,5	—	0,1	3,6	45,4	24,2	19,5	43,7	3,5
18	D., Kath., 49 J.	*	0,6	5,7	—	0,1	3,4	39,1	30.2	14,9	45,1	6,0
19	N., Luise, 59 J.		1,1	11,0	—	—	1,3	31,4	20,1	31,6	51,7	3,5
20	F., Emma, 48 J.	8700	0,1	4,0	—	0,3	2,3	36,6	20,3	31,6	51,9	4,8

* Bei späteren Untersuchungen wurden auch die Gesamtzahlen festgestellt, die aus den Tabellen II—IX ersichtlich sind.

besteht auch stärker ausgesprochene Eosinophilie. Bemerkenswert ist, daß diese zwar 1mal (Fall No. 19) mit einer besonders ausgeprägten Lymphozytose zusammentrifft, daß aber andererseits auch Eosinophilie ohne Lymphozytenvermehrung vorkommt (No. 2). Auch leichte Verminderungen der Eosinophilenzahlen sind wiederholt festzustellen, doch sinkt die relative Hypeosinophilie niemals unter 1 Proz. Aneosinophilie wurde also in keinem Falle beobachtet.

Unter den neutrophilen Leukozyten nehmen die im normalen Blutbild nicht vorhandenen Myelozyten und Metamyelozyten auch bei meinen Untersuchungen nur einen sehr bescheidenen Raum ein. Da sich auch die Zahl der bis zu 4 Proz. normalen Stabkernigen nur in vereinzelten Fällen erhöht, kann nur bei wenigen Bazillenträgern von einer schwachen Linksverschiebung des neutrophilen Blutbildes im Sinne *Arneths* gesprochen werden. Dagegen findet sich bei den segmentkernigen Neutrophilen in sämtlichen Fällen eine mehr oder weniger ausgesprochene relative Verminderung. In einem Fall sinkt der Wert der Segmentkernigen sogar bis unter die Hälfte der normalen Prozentzahlen. Dieser Ausfall an Segmentkernigen wird nur in 2 Fällen durch eine leichte Erhöhung der Stabkernigen gedeckt, so daß also bei allen übrigen Untersuchten nicht nur die Zahl der Segmentkernigen, sondern auch der gesamten Neutrophilen hinter der Norm zurückbleibt.

Die relative Verminderung der Neutrophilen erfolgt, wie wir weiter sehen, im wesentlichen zugunsten der Lymphozyten. Diese im Rahmen der gesamten weißen Blutzellen normal mit 21--25 Proz., rund mit 23 Proz. angegebene Zellklasse weist nämlich, als bedeutungsvollste Veränderung, bei 18 von 20 Bazillenträgern eine zum Teil sehr erhebliche Vermehrung auf. Zur besseren Verdeutlichung dieses Ergebnisses wurde die Tabelle entsprechend dem Anstieg der gefundenen Lymphozytenwerte angeordnet. Ihre Betrachtung lehrt, daß nur in den beiden ersten Fällen eine dem normalen Mittelwert annähernd entsprechende Zahl festgestellt werden konnte; die Auszählung sämtlicher übrigen Präparate förderte dagegen eine deutliche, zum Teil sehr erhebliche Steigerung der Lymphozytenwerte zutage.

Es bestand
in 19 Fällen (= 95 % aller unters. Fälle) eine relat. Lymphozytenzahl von mehr als 25 %
„ 16 „ (= 80 „ „ „ „) „ „ „ „ „ „ 30 „
„ 10 „ (= 50 „ „ „ „) „ „ „ „ „ „ 35 „
„ 7 „ (= 35 „ „ „ „) „ „ „ „ „ „ 40 „
„ 3 „ (= 15 „ „ „ „) „ „ „ „ „ „ 45 „
„ 2 „ (= 10 „ „ „ „) „ „ „ „ „ „ 50 „

der Gesamtleukozyten. Bemerkenswert ist es, daß sich in den beiden einzigen Fällen mit normalen Lymphozytenzahlen eine Steigerung der Eosinophilenwerte findet, die in einem Falle sogar recht beträchtlich ist (9,5 Proz. der Gesamtleukozyten). Das in vielen Fällen starke Hervortreten der großen Lymphozyten verdient ebenfalls besondere Erwähnung.

Die großen, mononukleären Zellen und Uebergangsformen weisen in ihren Zahlen kein besonders charakteristisches Verhalten auf.

Im Wesentlichen entspricht also das Blutbild beim Typhusbazillenträger etwa dem, wie wir es im Verlauf eines akuten Typhus häufig bei der Rekonvaleszenz oder auch schon im Fieberabfall finden.

Fragt man sich nun nach den *Ursachen* der im leukozytären Blutbild von Typhusbazillenträgern gefundenen Veränderungen, so muß auch hier, wie beim akuten Typhus, das spezifische *Toxin* als das auslösende Moment angesprochen werden. Auch im Verlauf einer Typhuserkrankung findet man, wie bereits erwähnt, in und nach dem Fieberabfall eine ähnliche Leukozytenverteilung wie beim Bazillenträger, nämlich eine Lymphozytose und Eosinophilie einerseits, sowie eine Verminderung der am schwersten durch das Typhusgift betroffenen Neutrophilen andererseits. Und trotzdem liegen bei dem Bazillenträger die Verhältnisse erheblich anders als beim akuten Typhus. Denn während bei letzterem Hand in Hand mit dem allmählichen Freiwerden des Körpers von Toxinen, d. h. mit der zunehmenden Entgiftung, die Neutrophilen ihre normalen Zahlen wieder erreichen, ja sogar nach dem Weigertschen Gesetz von der Ueberkompensation die gewohnten Grenzen überschreiten, bleibt beim chronischen Bazillenträger das im Körper dauernd vorhandene Toxin eine ständige Quelle für die Hemmung der neutrophilen Zellbildung.

Ein ähnlicher Maßstab ist auch bei Beurteilung der Lymphozytose und Eosinophilie anzulegen. Diese Erscheinungen werden beim akuten Typhus durch eine verhältnismäßig schnellere Erholung der diese Zellen bildenden Organsysteme gegenüber dem neutrophilen System erklärt. Es ist sicher, daß ihr Auftreten unabhängig von der Entgiftung des Körpers erfolgt, indem zu einer Zeit, in der noch massenhaft Toxin produzierende Bazillen im Organismus weilen, eine nicht nur relative, sondern sogar absolute Vermehrung der Lymphzellen und der Eosinophilen gefunden wird. Da auch diese beiden Zellarten im Anfang der Erkrankung schwer durch das Typhustoxin geschädigt waren, ist es zweifellos richtig, bei ihnen von einer rascheren Erholung gegenüber den Neutrophilen zu sprechen. Diese Deutung reicht jedoch für die beim Bazillenträger festgestellten gleichartigen Erscheinungen nicht aus. Denn wenn wir annehmen, daß bei den gutartig verlaufenden Typhen nach der anfänglichen Schädigung und darauf folgenden Erholung des lymphatischen Systems das Toxin endgültig die Möglichkeit eines schädigenden Einflusses auf die Lymphzellenbildung verloren hat, könnten wir unter denselben Voraussetzungen beim Bazillenträger wohl normale Lymphozytenzahlen, nicht aber erhöhte absolute Werte finden. Denn die ursprüngliche Schädigung, die für ihre nächste Folgezeit eine Ueberkompensation bedingen könnte, würde ja so weit zurückliegen, daß sich die normalen Zahlen längst wieder hergestellt haben müßten. Das teilweise Vorhandensein von absolut erhöhten Lymphozytenwerten zeigt uns jedoch, daß das Toxin die Gabe besitzt, dauernd auf das lymphatische System als ein Reiz zu wirken, den dieses infolge seiner vielleicht durch Anpassung erworbenen Widerstandsfähigkeit nicht mit einer Funktionshemmung, als vielmehr mit einer Funktionssteigerung beantwortet. Auch beim akuten Typhus ist es uns übrigens geläufig, zu sehen, daß die Erhöhung der Lymphozytenwerte beim Auftreten der Lymphozytose nicht immer in einem gleichmäßigen Anstieg erfolgt (Schottmüller, 26), vielmehr folgen oft auf anfängliche Erhebungen wieder Remissionen der Lymphozytenkurve, so daß es zwischen dieser und der Neutrophilenkurve zu mehrfachen Kreuzungen und Rückkreuzungen kommen kann, ein Beweis dafür, daß das Toxin auch hier noch imstande ist, das lymphatische System zu beeinflussen.

In gleicher Weise wie zu dem Verhalten der Lymphozyten muß auch zu dem der Eosinophilen die ständige Reizwirkung des Toxins als Ursache angesehen werden. Ja es prägt sich hier sogar in den Fällen mit relativer Verminderung der Eosinophilen die zellbildungshemmende

Wirkung des Typhusgiftes aus, die allerdings nach unseren Befunden nicht stark genug ist, um ein völliges Versagen der Zellproduktion hervorzurufen. Andererseits deutet eine Reihe mehr oder weniger erhöhter Eosinophilenwerte darauf hin, daß es sich auch hier, wie beim akuten Typhus, um ein Wechselspiel zwischen Hemmung der Zellbildung und Ueberproduktion handelt, wobei letztere wiederum in biologischen Gesetzen ihre Erklärung finden dürfte.

Gleich an dieser Stelle will ich bemerken, daß es nicht gelang, die bei der Untersuchung des Blutbildes gefundenen Ergebnisse zu der Häufigkeit der positiven Befunde bei den Stuhluntersuchungen in Beziehung zu setzen. Es entsprach also keineswegs immer einem stark ausscheidenden Bazillenträger eine besonders ausgeprägte Lymphozytose usw. Dies ist insofern nicht verwunderlich, als die starke Ausscheidung eines Keimträgers nicht in der Größe des Bazillenherdes, als vielmehr in dem für die Ausscheidung besonders günstigen Sitz desselben ihre Ursachen haben kann. Außerdem spielen bei der Lymphozytenvermehrung jedoch noch andere Faktoren mit, auf die ich weiter unten zurückkommen werde.

Nachdem bisher die Ursachen der im Blutbild von Typhusbazillenträgern aufgefundenen Veränderungen behandelt worden sind, soll nunmehr noch auf deren Zweck und Bedeutung eingegangen werden. Der Gedanke darf wohl von vornherein als unhaltbar abgelehnt werden, daß die vermehrten Lymphzellen gewissermaßen vertretend sämtliche Arbeitsleistungen der an der normalen Zahl fehlenden Neutrophilen übernehmen. Durch die Forschungen von Ehrlich, Charles, Potier, Brandenburg, Erich Leber, Meyer, Metschnikoff u. a. sind als der neutrophilen Zelle zukommende Eigenschaften das Oxydations- und Reduktionsvermögen, die Bildung proteolytischer und autolytischer Fermente und die Phagozytose festgestellt worden. Von diesen Gaben besitzt nach Erich Meyer, Erben, Stern und Eppenstein erwiesenermaßen der Lymphozyt die meisten überhaupt nicht, die Phagozytose nur in beschränktem Umfange der große Lymphozyt. Jedenfalls kommt ein Ersatz dieser unter Umständen ausfallenden Arbeitsleistungen der Neutrophilen durch Lymphzellen danach nicht in Frage.

Nach den Untersuchungen von Buchner, Bordet und Ehrlich verfügen die Neutrophilen aber auch durch Antitoxinbildung über antitoxische Wirkungen. Daß beim Bazillenträger das geschwächte neutrophile System geeignet wäre, einen derartigen Einfluß auszuüben, ist allerdings nicht anzunehmen. Für die Erfüllung einer solchen Aufgabe müßten zum mindesten normale Zahlenwerte erwartet werden. Dagegen erscheint es sehr wohl statthaft, bei unseren Untersuchungen den Lymphozyten eine antitoxinbildende Wirkung zuzusprechen. Es ist bewiesen, daß die Lymphozyten in manchen Fällen über antitoxische und virulenzabschwächende Kräfte verfügen. Nägeli (2) sieht, entsprechend den Befunden bei den verschiedenen Infektionskrankheiten, für die akuten Affektionen die Neutrophilen, für die chronischen aber, sowie für Prozesse von geringer Virulenz, nach Lossen (29) von geringerer Intensität des Reizes, die Lymphozyten als die Träger der Schutzstoffe im Organismus an.

Trotzdem es sich beim Bazillenträger um einen chronischen Zustand handelt, kann diese Tatsache wohl kaum dazu bestimmen, ihn im Sinne Nägelis als chronische Affektion anzusehen. Denn 1) stellt das Bazillenträgertum als solches ja keinen eigentlichen fortschreitenden Krankheitsprozeß dar, und 2) löst sowohl eine Autoinfektion als auch eine Uebertragung auf andere nicht chronische Erscheinungen, sondern einen akuten Typhus aus. Auch handelt es sich beim Typhusgift um das Produkt einer höchst virulenten Bakterienart, dessen Intensität seines Reizes sich am besten in der Hemmung der gesamten Blutzellenbildung beim Typhuskranken, in der Hemmung der neutrophilen Zellbildung beim Bazillenträger äußert. Trotzdem also nach dem Gesagten eigentlich den Neutrophilen die Aufgabe der Vernichtung des körperfeindlichen Materials beim Bazillenträger zufallen würde, muß doch wegen der deutlich sichtbaren Schädigung dieser Zellart das intakte und häufig noch verstärkte lymphozytäre System als Träger der Schutz- und Abwehrstoffe im Körper angesehen werden.

Eine virulenz-abschwächende Tätigkeit der Lymphozyten, wie sie z. B. Bartel (30) bei Tuberkulose beobachtet hat, der eine Umwandlung virulenter Tuberkelbazillen in eine avirulente Modifikation durch Lymphozyten im Tierversuch beschreibt, kann nicht in Frage kommen. Gegen eine derartige Annahme sprechen die zahlreichen, durch Bazillenträger verursachten Kontaktinfektionen, die zum Teil einen äußerst stürmischen Verlauf nehmen.

Wohl aber sind die Lymphzellen als die dauernden Produzenten des im Körper nachweisbaren Antitoxins anzusprechen, ohne dessen Vorhandensein der Bazillenträger rasch einer Autoinfektion verfallen würde. Derartige Vorkommnisse sind bei Bazillenträgern des öfteren beobachtet worden und werden wohl durch eine plötzliche Ausschwemmung zahlreicher Bazillen aus ihrem eigentlichen Herd hervorgerufen. Soweit das antitoxische Vermögen des Körpers nun ausreicht, kommt es hierbei zur Abtötung der Bakterien durch die auch im normalen Blutserum und Gewebe vorhandenen bakteriziden Substanzen. Bei mangelhaftem Antitoxingehalt jedoch setzt der durch das Typhusgift geschwächte Organismus der Ansiedlung der Keime an ihren Prädilektionsstellen keinen genügenden Widerstand entgegen, und es erfolgt eine Neuerkrankung an Typhus. Eine solche Hemmung der Antitoxinbildung dürfte nach dem Gesagten mit Wahrscheinlichkeit auf eine interkurrente Schädigung des lymphatischen Systems zurückzuführen sein.

Vergleicht man die beim Bazillenträger im Blutbild gefundenen Verhältnisse mit denen bei der akuten Typhuserkrankung, so ist es sehr wahrscheinlich, daß auch hier das lymphatische System Bildner und Träger der Abwehrstoffe ist, denn, abgesehen davon, daß die Kraftprobe zwischen dem Toxin und dem neutrophilen System zuungunsten des letzteren verläuft, zeigt auch andererseits die nach gleichfalls anfänglicher Schädigung viel früher als bei den Neutrophilen einsetzende Erholung der Lymphozyten, daß sie es sind, die nunmehr den Kampf mit dem Toxin aufnehmen. Wie sollte auch anders die Erscheinung zu deuten sein, daß die Zahl der Lymphozyten in gutartig verlaufenden Fällen eine oft gewaltige Steigerung erfährt, die uns die Fiebertafel durch die oben erwähnte charakteristische Kreuzung der Neutrophilen- und Lymphozytenkurve vermittelt, in tödlich ausgehenden Fällen dagegen diese bedeutsame Steigerung vermißt wird. Es ist daher auch nicht, wie üblich, die Lymphozytensteigerung als Folge der Gutartigkeit einer Typhuserkrankung anzusehen, sondern es ist vielmehr der gutartige Verlauf auf das Konto der Lymphzellenvermehrung zu setzen. Denn in einem solchen Falle, in dem die anfängliche Schädigung des lymphatischen Systems überwunden wurde, können die Lymphozyten nunmehr die in ihnen steckenden Abwehrkräfte entfalten, im Falle des Ausbleibens

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

der Lymphozytose dagegen, die ja prognostisch immer ungünstig zu beurteilen ist, war die Schädigung derart stark, daß eine Erholung und damit eine ausreichende Bildung von Antitoxin nicht mehr möglich ist.

Trotzdem bei allen Bazillenträgern die Untersuchungstage vollkommen willkürlich gewählt waren, mußte man doch von vornherein erwarten, daß die Befunde nicht dauernd völlig dieselben bleiben, sondern als Ausdruck einer biologischen Reaktion des Körpers in gewissen Grenzen Schwankungen unterworfen sein würden. Es erschien daher angebracht, wenigstens in einer Anzahl der Fälle, die Untersuchungen nach einem gewissen Zeitraum noch ein oder mehrere Male zu wiederholen. Zu diesem Zwecke wurden die in der Heil- und Pflegeanstalt Homburg untergebrachten 8 Bazillenträger 4mal in wöchentlichen Abständen und dann noch 1mal nach einer längeren Pause untersucht.

Tabelle II.

T., Maria		I.	II.	III.	IV.	V.
		Untersuchung				
	Datum	28./6.	5./7.	12./7.	19./7.	4./9.
Basophile Leukozyten		0,1	0,6	0,2	—	0,4
Eosinophile Leukozyten		2,1	1,2	1,4	3,6	2,8
Neutrophile Leukozyten	Myelozyten	0,1	—	—	—	—
	Metamyelozyten	—	—	0,2	0,4	—
	Stabkernige	8,3	5,6	5,2	4,6	6,0
	Segmentkernige	41,2	57,2	52,4	46,4	53,0
Kl. Lymphozyten		31,5	25,6	25,0	27,8	16,0
Gr. Lymphozyten		12,0	6,0	10,0	11,0	17,0
Gesamtsumme der Lymphozyten		43,5	31,6	35,0	38,8	33,0
Gr. Mononukleäre u. Uebergangsformen		4,7	3,8	5,6	6,2	4,8
Leukozyten, Gesamtzahl		6300	.	8000	7900	6900

Tabelle III.

D., Friederike		I.	II.	III.	IV.	V.
		Untersuchung				
	Datum	28./6.	5./7.	12./7.	19./7.	4.
Basophile Leukozyten		0,3	0,8	—	0,2	0
Eosinophile Leukozyten		2,9	3,0	2,0	2,0	1
Neutrophile Leukozyten	Myelozyten	0,1	—	—	—	—
	Metamyelozyten	—	—	—	—	—
	Stabkernige	0,8	1,2	0,6	0,6	1
	Segmentkernige	52,2	49,8	51,2	41,6	4
Kl. Lymphozyten		23,1	38,4	24,6	25,2	1
Gr. Lymphozyten		16,4	3,6	17,4	27,4	3
Gesamtsumme der Lymphozyten		39,5	42,0	42,0	52,6	45
Gr. Mononukleäre u. Uebergangsformen		4,2	3,2	4,2	3,0	3
Leukozyten, Gesamtzahl		.	10000	8200	9500	8

Tabelle IV.

A., Clementine		I.	II.	III.	IV.	V.
		Untersuchung				
	Datum	28./6.	5./7.	12./7.	19./7.	4./9.
Basophile Leukozyten		0,4	0,6	0,6	1,8	1,2
Eosinophile Leukozyten		9,5	10,8	15,4	15.6	16,0
Neutrophile Leukozyten	Myelozyten	—	0,2	0,2	—	—
	Metamyelozyten	0,2	0,4	0,2	0,2	—
	Stabkernige	3,6	2,0	2,0	1,4	2,4
	Segmentkernige	55,3	49,6	37,4	41,0	40,6
Kl. Lymphozyten		17,3	23,4	31,4	24,6	18,0
Gr. Lymphozyten		8,2	8,6	7,8	9,2	16,0
Gesamtsumme der Lymphozyten		25,5	32,0	39,2	33,8	34,0
Gr. Mononukleäre u. Uebergangsformen		5,5	4,4	5,0	6,2	5,2
Leukozyten, Gesamtzahl		.	6200	6800	6500	6400

Tabelle V.

D., Kath.		I.	II.	III.	IV.	V.
		Untersuchung				
	Datum	28./6.	5./7.	12./7.	19./7.	4.
Basophile Leukozyten		0,6	0,2	0,2	0,4	0,8
Eosinophile Leukozyten		5,7	5,2	6,8	6,4	7,8
Neutrophile Leukozyten	Myelozyten	—	0,4	—	—	—
	Metamyelozyten	0,1	0,6	0,2	—	—
	Stabkernige	3,4	3,8	3,4	1,6	1,2
	Segmentkernige	39,1	40,6	42,2	37,4	47,4
Kl. Lymphozyten		30,2	21,2	32,0	43,4	21,2
Gr. Lymphozyten		14,9	22,6	11,2	3,0	16,6
Gesamtsumme der Lymphozyten		45,1	43,8	43,2	46,4	37,8
Gr. Mononukleäre u. Uebergangsformen		6,0	5,4	4,0	7,8	5,0
Leukozyten, Gesamtzahl		4800	5500	5700	6000	720

Tabelle VI.

H., Auguste		I.	II.	III.	IV.	V.
		Untersuchung				
	Datum	28./6.	5./7.	12./7.	19./7.	4./9.
Basophile Leukozyten		0,3	0,4	—	0,4	1,0
Eosinophile Leukozyten		2,9	1,6	1,0	1,8	2,2
Neutrophile Leukozyten	Myelozyten	—	—	—	—	—
	Metamyelozyten	0,1	—	0,8	—	—
	Stabkernige	4,8	5,6	2,4	2,4	3,4
	Segmentkernige	47,5	49,4	47,2	47,4	43,0
Kl. Lymphozyten		29,2	33,2	38 0	36,0	29,2
Gr. Lymphozyten		11,2	4,8	8,2	6,8	15,0
Gesamtsumme der Lymphozyten		40,4	38,0	46,2	42,8	44,8
Gr. Mononukleäre u. Uebergangsformen		4,0	5,0	2,4	5,2	5,6
Leukozyten, Gesamtzahl		.	4500	6600	7500	5400

Tabelle VII.

H., Elise		I.	II.	III.	IV.	V.
		Untersuchung				
	Datum	28./6.	5./7.	12./7.	19./7.	4./9.
Basophile Leukozyten		0,8	0,2	—	0,2	0,4
Eosinophile Leukozyten		9,0	11,4	9,6	11,2	10,2
Neutrophile Leukozyten	Myelozyten	—	—	—	—	—
	Metamyelozyten	0,1	0,2	0,4	—	—
	Stabkernige	1,8	1,4	2,0	1,4	2,6
	Segmentkernige	43,0	34,2	48 8	40,0	40,4
Kl. Lymphozyten		31,6	41,2	24,0	33,6	22,2
Gr. Lymphozyten		9,0	8,0	11,4	8,2	17,2
Gesamtsumme der Lymphozyten		40,6	49,2	35.4	41,8	39,4
Gr. Mononukleäre u. Uebergangsformen		4,7	3,4	3,8	5,4	7,0
Leukozyten, Gesamtzahl		.	5400	10100	7500	9700

Tabelle VIII.

J., Susanna		I.	II.	III.	IV.	V.
		Untersuchung				
	Datum	28./6.	5./7.	12./7.	19./7.	4./9.
Basophile Leukozyten		0,5	0,2	—	0,8	0,2
Eosinophile Leukozyten		3,0	1,0	2,8	2,6	1,4
Neutrophile Leukozyten	Myelozyten	—	—	—	—	0,2
	Metamyelozyten	0,1	—	0.2	—	0,2
	Stabkernige	1,4	0,4	1,8	1,0	1,6
	Segmentkernige	49,7	65,0	60,0	57,2	60,8
Kl. Lymphozyten		27.6	18,0	23.2	21,6	15.8
Gr. Lymphozyten		10,8	9,0	6,4	8,6	12,6
Gesamtsumme der Lymphozyten		38,4	27,0	29,6	30,2	28,4
Gr. Mononukleäre u. Uebergangsformen		6,9	6,4	5,6	8,2	7,2
Leukozyten, Gesamtzahl		.	5600	6900	6500	6500

Tabelle IX.

Sch., Heinrich		I.	II.	III.	IV.	V.
		Untersuchung				
	Datum	28./6.	5./7.	12./7.	19./7.	4./9.
Basophile Leukozyten		0,1	0,4	—	—	0,4
Eosinophile Leukozyten		3,8	4,2	2,0	3,4	3,2
Neutrophile Leukozyten	Myelozyten	—	—	—	—	—
	Metamyelozyten	0,1	—	0,2	0,2	—
	Stabkernige	7,0	3,4	2,8	4,0	4,2
	Segmentkernige	51,1	49,4	47,2	47,0	44,2
Kl. Lymphozyten		21.4	28,6	25,4	21,6	16,6
Gr. Lymphozyten		11,5	5,8	17,4	17,0	27,4
Gesamtsumme der Lymphozyten		32,9	34,4	42,8	38,6	44,0
Gr. Mononukleäre u. Uebergangsformen		5,0	8,2	5,0	6,8	4,0
Leukozyten, Gesamtzahl		.	5300	4900	3750	4900

Von den übrigen mir weniger leicht zugänglichen Bazillenträgern konnte ich nur 1 Person einige Wochen nach der 1. Untersuchung zum zweiten Male auf die leukozytären Verhältnisse ihres Blutbildes prüfen. Die Ergebnisse sind in den folgenden Tabellen niedergelegt. Der besseren Uebersicht halber wurde auch die Anfangsuntersuchung noch einmal in die Tabellen mitaufgenommen.

Wie aus den Tabellen ersichtlich, sind die Leukozytenbewegungen, entsprechend der gehegten Erwartung, bei den Untersuchten nicht unerheblich. Bei den Basophilen ist dies wenig ausgeprägt; nur in 1 Falle steigt ihr Wert über 1 Proz. Dagegen finden sich unter den Eosinophilen vereinzelt erhebliche Steigerungen, z. B. im Falle Adler (Tab. IV) ein kleinster Wert von 9.5, ein größter von 16,6 Proz. Trotzdem ist eine gewisse Neigung zur Stetigkeit in dem Verhalten der Eosino-

Tabelle X.

F., Emma, 48 J.	I. Untersuchung	II. Untersuchung
	—	—
Basophile Leukozyten	0,1	0,2
Eosinophile Leukozyten	4,0	2,4
Neutrophile Leukozyten		
Myelozyten	—	0,4
Metamyelozyten	0,3	0,4
Stabkernige	2,3	6,2
Segmentkernige	36,6	49,2
Kl. Lymphozyten	30,3	18,8
Gr. Lymphozyten	31,6	19,4
Gesamtsumme der Lymphozyten	51,9	38,2
Gr. Mononukleäre u. Uebergangsformen	4,8	3,0
Leukozyten, Gesamtzahl	8700	7100

philen nicht zu verkennen. Neutrophile Vorstufen wurden nur ganz vereinzelt festgestellt. Dagegen wiesen unter den normalen Neutrophilen die Segmentkernigen teilweise recht wechselnde Zahlen auf, so daß ihre Kurven einen unregelmäßig welligen Charakter bekommen.

Ihre Bewegungen werden im umgekehrten Sinne von den Lymphozyten mitgemacht, bei denen sich mehrfach zwischen dem höchsten und dem niedrigsten Wert eine starke Differenz findet, z. B. 49,2 Proz. und 35,4 Proz. im Falle Hertzler (Tab. VII). Aber selbst die niedrigsten Lymphozytenzahlen übersteigen zumeist und oft recht erheblich den normalen Wert, so daß die anfangs beobachtete relative Lymphozytose auch bei der weiteren Verfolgung der Fälle wiedergefunden wird. Ja sogar in einem Falle (Adler, Tab. IV), in dem bei der Anfangsuntersuchung die relative Lymphozytenzahl nur 25,5 betrug, wurden bei den weiteren Untersuchungen stets Werte über 30 Proz., einmal sogar 39,2 Proz. beobachtet. Andererseits fand sich z. B. im Falle Jakob (Tab. VIII), der bei der 1. Untersuchung eine Lymphozytenzahl von 38,4 Proz. aufwies, 8 Tage später eine solche von 27,0 Proz., also ein fast normaler Wert. Auch das Verhältnis der kleinen zu den großen Lymphozyten war wenig stetig. Mehrfach konnten im Verlauf dieser Untersuchungen Türksche Reizungsformen festgesellt werden. Gleichmäßiger als die Lymphozytenzahlen verhielten sich die der großen Mononukleären und Uebergangsformen, die sich mit ganz geringen Ausnahmen im normalen Spielraum von 4—8 Proz. bewegten.

Die Kurve der absoluten Leukozytengesamtzahlen kann, soweit die Beobachtungen darüber reichen, gleichfalls als ziemlich unruhig verlaufend bezeichnet werden. Neben den in der Mehrzahl befindlichen normalen Werten wurden sowohl verminderte als auch erhöhte Zahlen festgestellt. Im Rahmen der einzelnen Fälle war einige Male eine Tendenz zu dauernd niedrigen oder gesteigerten Gesamtzahlen wahrnehmbar. Ihre Verschiebungen scheinen unabhängig von den Bewegungen der einzelnen Leukozytenarten vor sich zu gehen.

Auch diese weiteren Untersuchungen lassen aus den oben erwähnten Gründen die Annahme berechtigt erscheinen, daß das Typhustoxin als die Ursache der im Blutbild beobachteten Abweichungen von der Norm anzusprechen ist. Und zwar kennzeichnen die Schwankungen der Lymphozyten- und Neutrophilenzahlen einen unregelmäßigen Wechsel in der Intensität des toxischen Reizes auf die blutbildenden Organe. Dies läßt den Schluß zu, daß aus dem nicht im ständigen unmittelbaren Konnex mit dem Kreislauf stehenden Bazillenherd nur von Zeit zu Zeit, und wohl auch in wechselnder Menge, eine Einschwemmung von Toxin in das Gefäßsystem erfolgt, die dann eine Reizung des Knochenmarks und der sonstigen blutbildenden Organe zur Folge hat. Besonders die normalen oder fast normalen, vereinzelt vorkommenden Lymphozytenzahlen, auf die dann später stark erhöhte Werte folgen, dürften kaum anders zu deuten sein. Ob bei gleichzeitigem Bestehen von niedrigen Lymphozyten- und gesteigerten Eosinophilenzahlen, wie es z. B. in Tab. IV, Untersuchung I, vorkommt, das eosinophile System noch von einer vorhergehenden Reizung alteriert ist, läßt sich schwer entscheiden. Jedenfalls steigen bei dem genannten Falle auch die Eosinophilenwerte im Laufe der weiteren Untersuchungen. Bemerkt zu werden verdient noch, daß sowohl bei diesem, wie auch bei den übrigen Eosinophilie aufweisenden Homburger Bazillenträgern, eine Fahndung auf etwa im Stuhle vorhandene Wurmeier, auch unter Zuhilfenahme des Telemannschen Anreicherungsverfahrens, ein negatives Ergebnis hatte.

Die im Blutbild von Bazillenträgern gefundenen leukozytären Verhältnisse können in doppelter Hinsicht eine gewisse praktische Bedeutung gewinnen. Zum ersten bildet die oft mit Eosinophilie einhergehende Lymphozytose einen Indikator für die Möglichkeit eines bestehenden Bazillenträgertums. Die Blutbilduntersuchung dürfte daher mit Vorteil neben der Widalschen Reaktion herangezogen werden, wenn es sich darum handelt, die Ausgangspunkte von Typhusepidemien sowie von ungeklärten Einzelerkrankungen aufzufinden, um so mehr als bei der Suche nach Bazillenträgern die einfache Stuhluntersuchung zunächst oft lange Zeit im Stich läßt, wodurch häufig ein vorzeitiges Abbrechen der Nachforschungen veranlaßt wird.

Des weiteren sollten therapeutische Versuche an Bazillenträgern nur mehr unter ständiger Kontrolle des Blutbildes vorgenommen werden, da erst durch völlige Befreiung des Körpers von Bazillen der das Blutbild beeinflussende Faktor ausgeschaltet wird.

Zusammenfassung.

1) Das Bakterientoxin vermag auch beim chronischen Typhusbazillenträger das Blutbild in charakteristischer Weise zu beeinflussen.

2) Diese Beeinflussung kommt in einer relativen Neutropenie und einer oft sehr beträchtlichen relativen Lymphozytose zum Ausdruck. Auch Steigerungen der Eosinophilenwerte werden häufig gefunden.

3) Die Ursache dieser Erscheinungen ist, wie bei akutem Typhus, in einer Reizung bzw. Hemmung der Funktion der betreffenden blutbildenden Organe durch das Typhustoxin zu suchen.

4) Die vermehrten Lymphozyten werden als Bildner des im Körper des Bazillenträgers kreisenden, eine Autoinfektion verhindernden Antitoxins angesehen.

5) Die Bewegungen der Neutrophilen und Lymphozyten bei längerer Verfolgung einzelner Fälle zeigen einen unregelmäßig wellenartigen Charakter, die der übrigen Leukozytenarten weisen eine größere Tendenz zur Stetigkeit auf.

6) Hieraus läßt sich schließen, daß die Intensität des Reizes auf die blutbildenden Organe nicht immer gleich ist. Sie ist vielmehr abhängig von der Zeit und der Menge des in den Kreislauf eingeschwemmten Toxins.

7) Die Leukozytengesamtzahl hat nichts Typisches; es wurden zumeist normale, daneben aber sowohl leicht verminderte als auch leicht erhöhte Werte beobachtet.

8) Eine unmittelbare Bedeutung kann die Untersuchung des leukozytären Blutbildes bei der Fahndung auf Typhusbazillenträger, sowie zur Kontrolle bei deren therapeutischen Heilversuchen gewinnen.

Literaturverzeichnis.

1) Nägeli, Die Leukozyten beim Typhus abdominalis. (Deutsch. Arch. f. klin. Med. Bd. 67. 1900.)
2) — Blutkrankheiten und Blutdiagnostik. Leipzig 1912.
3) Arneth, Experimentelle Untersuchungen zum Verhalten der weißen (und roten) Blutkörperchen bei Infektions- und Intoxikationsversuchen usw. (München. med. Wochenschr. 1904. No. 45.)
4) Askanaży, Der Ursprung und die Schicksale der farblosen Blutzellen. (München. med. Wochenschr. 1904. No. 44.)
5) Decastello u. Hofbauer, Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 34. 1900.
6) Kast u. Gütig, Ueber Hypoleukozyten beim Abdominaltyphus mit anderen Erkrankungen. (Deutsch. Arch. f. klin. Med. Bd. 80.)
7) Studer, Ueber das Verhalten der weißen Blutzellen unter Einwirkung von Typhus- und Kolitoxinen. [In.-Diss.] Zürich 1903.
8) Azzurini u. Massart, Lo speriment. 1904.
9) Lavatelli, Rif. med. 1910.
10) Lucibelli, Rif. med. Vol. 25.
11) Ickert, Beitr. z. Klin. d. Infektionskrankh. 1915.
12) Lipp, Das Blutbild bei Typhus und Choleraschutzimpfung. (München. med. Wochenschr. 1915. S. 539.)
13) Stieve, Die Leukozyten bei der Typhusschutzimpfung. (Deutsch. Arch. f. klin. Med. Bd. 117.)
14) Dreyfuß, Ueber die klinischen Begleiterscheinungen der Typhusschutzimpfung. [Inaug.-Dissert.] Straßburg 1915.
15) Hage u. Korff-Petersen, Typhusschutzimpfung und Typhusdiagnose. (Deutsch. med. Wochenschr. 1915. No. 45.)
16) Römer, Die klinischen Erscheinungen nach der Typhusschutzimpfung. (Beitr. z. Klin. d. Infektionskrankh. ui z. Immunitätsf. Bd. 4. H. 1.)
17) Schneider, Ueber Leukopenie und Aneosinophilie nach Typhusschutzimpfungen. (Deutsch. med. Wochenschr. 1915. No. 14.)
18) Ziersch, Beobachtungen an Typhusschutzgeimpften. (München. med. Wochenschr. 1915. No. 39.)
19) Luksch, Aussprache nach Stintzing, Paratyphus. (Verhandl. d. Deutsch. Kongr. f. inn. Med. in Warschau, Wiesbaden 1915.)
20) Mayer, Arthur. Kliniksche und experimentelle Beiträge zur Klinik der Typhusschutzimpfung (Zeitschr. f. exper. Pathol. u. Ther. Bd. 19. H. 1.)
21) Fraenkel, Ueber Knochenmark und Infektionskrankheiten. (München. med. Wochenschr. 1902. No. 14.)
22) Lentz, Ueber chronische Typhusbazillenträger. (Klin. Jahrb. Bd. 14. 1905.)
23) Ebeling, Ueber das Vorkommen von Typhusbazillen im Blut eines „gesunden" Bazillenträgers. (Berlin. klin. Wochenschr. 1914. No. 15.)
24) Busse, Ueber das Vorkommen von Typhusbazillen im Blut nicht-typhuskranker Personen. (München. med. Wochenschr. 1908. No. 21.)
25) Sahli, Lehrbuch der klin Untersuchungsmethoden, Leipzig u. Wien 1914.
26) Schottmüller, Die typhösen Erkrankungen. (Mohr u. Staehelin, Handb. usw. Berlin 1914.)
27) Arneth, Die neutrophilen weißen Blutkörperchen bei Infektionskrankeiten. Jena 1904.
28) Schilling, Viktor, Das Blutbild und seine klinische Verwertung. Jena (Gustav Fischer) 1912.
29) Lossen, Untersuchungen über die in den Ergüssen und in der serösen Auskleidung der menschlichen Pleura- und Peritonealhöhlen bei Entzündungen vorkommenden Zellen. (Deutsch. Arch. f. klin. Med. Bd. 86.)
30) Bartel, Die Lymphdrüse als Schutzorgan gegen die Tuberkuloseinfektion. (Wien. klin. Wochenschr. 1905. No. 41.)

Nachdruck verboten.

Der Walfischseptikämiebazillus und sein Verhältnis zur Oedembazillengruppe.

[Aus dem Serumlaboratorium der Kgl. Tierärztlichen und Landwirtschaftlichen Hochschule zu Kopenhagen (Direktor: Prof. Dr. C. O. Jensen).]

Von Tierarzt **M. Christiansen.**

Im Centralblatt für Bakteriologie Bd. 7. 1890. S. 267 hat Ivar Nielsen einen eigentümlichen Walfischfang beschrieben, der seit dem Mittelalter an einer bestimmten Stelle an der Westküste Norwegens (in der Nähe von Bergen) von den Fischern betrieben wurde. Das Verfahren bestand darin, daß man mittels besonderer Pfeile (der sog. Todpfeile) dem gejagten Tiere (Balaenoptera rostrata) eine rauschbrandähnliche Infektionskrankheit beibrachte, durch die es schnell ermattete und darauf leicht zu harpunieren und zu töten war. Von Ivar Nielsen und anderen norwegischen Forschern (F. G. Gade, Klaus Hanssen, Armauer Hansen) wurde Ende der 80er Jahre dargetan, daß die Infektion durch eine Bakterie verursacht werde, die in morphologischer Beziehung dem Rauschbrandbazillus sehr ähnlich sei, und Ivar Nielsen betrachtete sie denn auch als mit dieser Bakterie sehr nahe verwandt oder vielleicht gar identisch. Der Walfischbazillus ist indessen bisher nie isoliert worden, so daß man ihn nicht hat näher untersuchen, noch seine Stellung zu den übrigen zur Oedembazillengruppe gehörenden Formen hat feststellen können.

Der eigentümliche Walfischfang hat längst aufgehört; teils ist man zu moderneren Fangverfahren übergegangen, teils kommen die Walfische heute nur sehr selten in den betreffenden Fjord. Es war daher nicht möglich, frisches Material von infizierten Walfischen zu erhalten. Im hiesigen Serumlaboratorium befindet sich aber seit vielen Jahren getrocknete Muskulatur eines infizierten Walfisches, die seinerzeit Prof. C. O. Jensen von Ivar Nielsen überlassen wurde, der Ende der 80er Jahre Material gesammelt hatte.

Aus diesem somit etwa 30-jährigen Material ist es mir nun gelungen, den Walfischbazillus unter Anwendung von v. Hiblers Hirnsubstrat zu isolieren; ich habe ihn darauf näher untersucht und mit den zur Oedembazillengruppe gehörenden Formen verglichen. Eine ausführliche, mit Photogrammen versehene Darstellung dieser Versuche ist schon an einem anderen Orte[1]) veröffentlicht; es sollen daher hier nur die Hauptergebnisse mitgeteilt werden:

Durch diese Untersuchungen konnte dargetan werden, daß der Walfischbazillus sich dem Ghon-Sachsschen Bazillus und den sich um denselben gruppierenden Bakterien (dem Bradsotbazillus, den aus „malignem Oedem“ bei verschiedenen Tieren isolierten Bakterien, ferner gewissen Kadaverbazillen u. a. m.) anschließt, daß aber in einigen Beziehungen doch charakteristische Abweichungen obwalten.

1) Der Walfischbazillus ist unbeweglich und hat keine Zilien. Zahlreiche Versuche, mittels verschiedener Färbungsmethoden

---

[1]) Norsk Magaz. f. Lægevidenskaben Kristiania 1919.

(Zettnow, Peppler, Casares-Gil) Zilien nachzuweisen, waren sämtlich ohne Erfolg. Bei den genannten Bazillen gelang die Zilienfärbung nach den genannten Verfahren stets mit der größten Leichtigkeit.

2) Der Walfischbazillus verflüssigt Gelatine bedeutend langsamer als die übrigen Stämme. Während in Gelatinekulturen des Bradsot- und Ghon-Sachsschen Bazillus nach 3–4 Tagen eine deutliche Verflüssigung beobachtet werden konnte, wies der Walfischbazillus erst nach ca. 10 Tagen eine beginnende Verflüssigung auf, die immer nur langsam vorschritt.

3) Der Walfischbazillus scheint im allgemeinen geneigter zur Sporenbildung im infizierten Organismus als die übrigen untersuchten Stämme der Ghon-Sachsschen Gruppe. Sogar beim lebenden Tiere kann man im Oedemsaft Massen von Sporen vorfinden.

Im übrigen bestand in den sonstigen morphologischen und kulturellen Beziehungen (Größe und Form der Stäbchen und Sporen, Lagerung der Sporen und Resistenz gegenüber thermischen Einwirkungen, Granulosebildung usw., ferner in betreff der Kolonieform und ihres sonstigen Wachstums in verschiedenen Substraten, unter anderen v. Hiblers Hirnsubstrat und Zeißlers Dextrose-Blutagar) die größte Aehnlichkeit zwischen dem Walfischbazillus und den übrigen erwähnten Stämmen. Auch in betreff des Gärungsvermögens gegenüber einer Reihe von Stoffen bestand Uebereinstimmung zwischen dem Walfischbazillus, dem Bradsotbazillus und dem Ghon-Sachsschen Bazillus.

In kleinen Gaben subkutan oder intramuskular verimpft, ist der Walfischbazillus hochgradig virulent für Meerschweinchen, bunte Ratten, Wanderratten, Mäuse, Tauben und Sperlinge, die in der Regel nach 8 bis 24 Stunden mit einem großen, sero-hämorrhagischen Oedem und Emphysem an der Impfstelle und deren Umgebungen starben. Gleichfalls ist für Kaninchen die Bakterie bei intramuskularer Verimpfung sehr pathogen, dagegen weniger pathogen bei subkutaner. Nur wenig pathogen ist sie für Hühner, die nur durch ganz lokale Affektionen reagieren. Schließlich fanden Infektionsversuche mit Reinkultur von Walfischbazillen statt an einem Delphin (Meerschwein, Phocaena communis). Das mit 0,4 ccm einer Hirnsubstratkultur intramuskular geimpfte Tier war nach etwa 20 Stunden nach der Verimpfung tot, und in der Muskulatur der Impfstelle fand sich an einem ein paar Handflächen großen Umkreis ein hämorrhagisches Entzündungsödem und Emphysem. In histologischen Präparaten der in der Weise veränderten Muskulatur fanden sich stark ausgesprochene pathologische Veränderungen, nämlich ödematöse Infiltration und große Blutungen des Perimysium, wo gleichfalls ein Gewimmel von Bakterien vorgefunden wurde, und ferner in großer Ausdehnung Nekrose und Degeneration (wachsartige Degeneration) der Muskelfasern.

An der Pathogenität der isolierten Bakterien für Walfische ist somit nicht zu zweifeln.

Bei infizierten Versuchstieren wurden Bakterien in großen Mengen im Oedemsaft und in der Regel auch am Peritoneum vorgefunden; an letzterer Stelle bildeten sie Ketten oder lange Fäden.

Mit dem Walfischbazillus, dem Bradsotstamm, dem von Ghon und Sachs isolierten Bazillus (Originalstamm Kràl) sowie 3 zu derselben Gruppe gehörenden Kadaverbazillen wurden an Kaninchen Immunsera hergestellt. Dadurch zeigte es sich, daß der Walfischbazillus durch sein überaus geringes sowohl agglutininbildendes als agglutininbindendes Vermögen von den 5 übrigen abweicht. Das Walfischbazillenserum agglutinierte nämlich den Walfischbazillus nicht in Verdünnungen von über 1 : 100, während die 5 übrigen Sera die homologen Stämme in Verdünnungen bis zu 1 : 10000—1 : 20000 total agglutinierten.

Bei Komplementbindungsversuchen verhielt das Walfischbazillenserum sich dagegen ganz wie die übrigen Sera, indem es sowohl mit Walfischbazillenantigen als mit Antigenen der übrigen Stämme bis zur Titergrenze totale Bindung ergab.

Aehnlich verhielten sich diese Sera in einer Reihe passiver Immunisierungsversuche an weißen Mäusen (das Serum wurde intraperitoneal, die Kultur subkutan nach 20 Std. injiziert). In diesen Versuchen besaß das Walfischbazillenserum in Gaben von 0,2 – 0,1 ccm eine sichere Schutzwirkung gegen nachfolgende Infektion sowohl mit Walfischbazillen als mit Bradsotbazillen (Infektionsgabe: $^1/_{200}$ ccm Kultur = doppelte Dosis letalis); dagegen wirkte es nur unsicher gegen den Ghon-Sachsschen Bazillus. Umgekehrt besaß ein Bradsotserum in Gaben von 0,1—0,02 ccm eine sichere Schutzwirkung sowohl gegen Walfischbazillen als auch Bradsotbazillen; weniger sicher schien die Wirkung dieses Serums gegen den Ghon-Sachsschen Bazillus. Normale Kaninchen- und Pferdesera besaßen keinerlei Schutzwirkung.

Es unterliegt somit keinem Zweifel, daß der Walfischbazillus sich der Ghon-Sachsschen Gruppe eng anschließt; aber in Anbetracht der oben erwähnten Abweichungen ist es doch sicherlich am richtigsten, ihn von dieser Gruppe zu sondern. Einen wie großen reellen Wert man im übrigen diesen Abweichungen beizumessen hat, wird ja in erster Reihe davon abhängen, inwiefern die betreffenden Eigenschaften als durchaus konstant betrachtet werden können. Nach einigen der neuesten Untersuchungen scheinen indessen gewisse zur Oedembazillengruppe gehörende Formen bedeutend variieren zu können, z. B. in betreff der Beweglichkeit und des Versehenseins mit Geißeln — wie unter andern von Kolle, Ritz und Schloßberger[1]) angegeben wird.

Nachdruck verboten.

Zur Kenntnis der Flagellaten im menschlichen Harn.

[Aus dem Laboratorium des Kriegsspitals III. Wien-Baumgarten, Spitalskommandant Oberstabsarzt Dr. Steinhaus (Leiter des Laboratoriums Stabsarzt auf Kriegsdauer Sektionsrat Dr. O. R. v. Wunschheim).]

Von Dr. med. **Rud. Reitler** und cand. med. **Hans Robicsek.**

Mit 1 Tafel.

Gelegenheit zu Beobachtungen von Harnbodoniden war anläßlich zahlreicher Harnsedimentuntersuchungen, die der eine von uns für die Nierenstation des Kriegsspitals III vorzunehmen hatte, nicht selten geboten. Während hierbei die mehrfache Feststellung von Bodo urinarius mit einem deutlichen Blepharoplasten in der Nähe des Geißelursprungs nichts Auffallendes darstellen konnte, war das Auftreten eines anderen Flagellaten um so bemerkenswerter, als sich derselbe von dem eben genannten weit unterschied.

Unter den im menschlichen Harn bisher beschriebenen Flagellaten nehmen die Bodoniden insofern eine besondere Stellung ein, als sie, ob-

---

1) Med. Klin. Jahrg. 14. 1918. S. 281.

schon seit längerer Zeit bekannt, doch noch nicht genügend erforscht wurden, um uns ein eindeutiges Bild über ihre Stellung im System, wie auch über ihre parasitische oder saprophytische Lebensweise zu ermöglichen. Wie denn überhaupt bezüglich der Gattung Bodo noch manche Unklarheit herrscht, und man z. B. noch vor kurzem annahm, blepharoplastlose Arten dürften, ebenso wie blepharoplasttragende, zu dieser Gattung gezählt werden. Erst neuerdings hat sich der Besitz eines Blepharoplasten für die Gattung Bodo als charakteristisch, und somit die Einreihung blepharoplastloser, bodoähnlicher Flagellaten in die Familie der Eumonadiden als notwendig erwiesen. (Doflein, Lehrbuch d. Protozoenkunde. 4. Aufl. S. 560.)

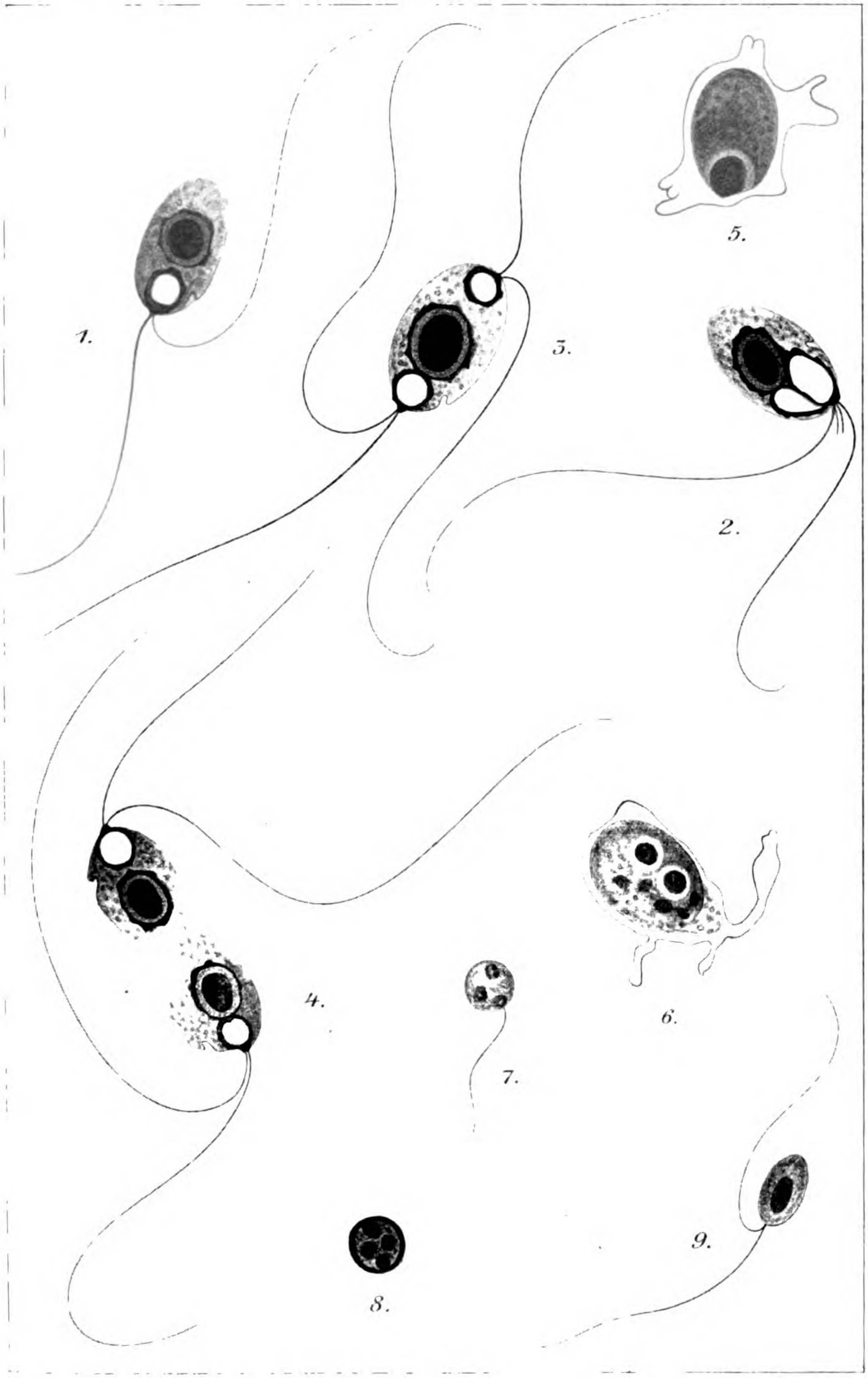
Bezüglich der 2. Frage, ob es sich um Parasiten oder Saprophyten handelt, nehmen wir derzeit an, daß die Bodoniden des Harns wohl als von außen her in den Harn gelangte Organismen anzusehen seien; indessen ist völlige Klarheit über diesen Punkt bislang nicht gewonnen worden.

Das von uns beobachtete Flagellat zeigte sich, oft sehr zahlreich im Harn erscheinend, als ein Organismus von geringer Metabolie mit rascher, lebhaft schlängelnder Bewegung. Im gefärbten Präparate (Grenachersches Hämatoxylin nach feuchter Fixierung mit 10-proz. Osmiumsäure) konnten wir folgende Erscheinungen feststellen:

Es treten 4 deutlich voneinander differente Formen des Tieres auf. Die 1. Form ist gekennzeichnet durch ovoide Gestalt, granuliertes. wabiges Plasma und einen bläschenförmigen Kern, dessen Karyosom zentral gelegen, wenig strukturiert ist und dessen peripherer Chromatinring unregelmäßige, knötchenartige Verdickungen zeigt. Ferner durch eine ganz peripher am Vorderende gelagerte Vakuole und ein meist neben ihr befindliches Zytostom, schließlich durch den Besitz zweier Geißeln, von denen die eine als Schleppgeißel dem Körper parallel läuft. Größe durchschnittlich 6—10 μ. Sehr auffällig ist die Geißelinsertion. Beide Geißeln inserieren an einem Basalkorn, welches sich in einen die Vakuole umgreifenden, mehrfache Verdickungen aufweisenden Rhizoplasten fortsetzt. Von der Insertionsstelle aus zieht dem Plasmarand entlang eine allmählich abnehmende Plasmaverdickung oder Plasmaleiste. Ein Blepharoplast konnte nicht beobachtet werden (Fig. 1).

In diesem Stadium waren zahlreiche Teilungsformen festzustellen. Zunächst wachsen aus der Geißelinsertionsstelle 2 junge Geißeln hervor. Gleichzeitig erfolgt die Teilung des Basalkorns und des Rhizoplasten unter gleichzeitiger Entwicklung einer 2. Vakuole, so daß bei einem derartigen Individuum 2 dicht aneinander gelagerte Vakuolen, 2 Basalkörner und Rhizoplasten, 2 große und 2 kleine Geißeln zu sehen sind (Fig. 2). Der Kern, in dem es zur selben Zeit bereits zu Teilungsvorbereitungen gekommen ist, teilt sich jedoch erst dann, wenn die beiden Vakuolen vollständig auseinander an die beiden Enden der Zelle gerückt sind (Fig. 3 u. 4). Schließlich kommt es zur Einschnürung und Teilung des Plasmas. Auf den ersten Blick drängt sich die Aehnlichkeit dieser Form mit Parapolytoma satura auf, doch fehlt die dicke Zellmembran; auch konnte niemals die für diese Art charakteristische Vierteilung wahrgenommen werden.

Die 2. Form (Größe durchschnittlich 12 μ) besitzt keine Geißeln und ist amöboid beweglich. Ihr grob granuliertes Endoplasma ist deutlich geschieden vom Ektoplasma, das allein die häufig fingerförmig ausgestreckten Pseudopodien bildet; der Kern ist viel massiger als der der begeißelten Form, besitzt keinen peripheren Chromatinring und ist lediglich



Reitler u. Robiczek gez. Verlag von Gustav Fischer in Jena Lith. Anst. v. K. Wesser, Jena

lich von einer helleren Kernsaftzone umgeben. In den zahlreichen Teilungsformen sieht man meistens einige mitunter in einer Reihe um den Kern angeordnete Kügelchen, welche sich mit Kernfarbstoffen intensiv färben (Fig. 5 u. 6).

Aus diesen Amöboidformen gehen durch Teilung sehr kleine, kugelige, 3 Kerne führende Zellen hervor, Größe durchschnittlich 5 μ, welche mit 1 in der Nähe eines Kernes entspringenden Geißel versehen sind und sich häufig enzystieren (Fig. 7 u. 8, 3. Form).

Solche Cysten färben sich sehr intensiv, zeigen 2—4 Kerne und eine dicke Membran. Beiden Formen, sowohl der amöboiden, wie auch der 1-geißeligen, fehlt die Vakuole vollständig. Ob es sich bei den letzteren um geschlechtliche Individuen handelt, können wir derzeit nicht entscheiden. Ein Ausschlüpfen 2-geißeliger Formen aus diesen Zysten konnte zwar bisher nicht festgestellt werden, doch scheint es wahrscheinlich, daß die 4. Form, die wir beobachtet haben, eben diesen Zysten entstammt. In ihrer Größe steht sie zwischen den 1-geißeligen und 2-geißeligen Zellen. Ihr Kern zeigt keinen deutlichen Chromatinring; sie besitzt aber bereits 2 Geißeln, jedoch noch keine Vakuole (Fig. 9). Uebergänge von dieser Form zu den typischen, mit Vakuole und Rhizoplast ausgestatteten Zellen sind sehr häufig.

Nach den angeführten Charakteristika handelt es sich also um ein bodoähnliches Flagellat, bei welchem auch ein Amöboidstadium als Lebensphase zu beobachten ist.

Neuartig erscheint bei diesem, unseres Wissens noch nicht beschriebenen Protozoen die Art und Weise der Teilung, und vor allem die merkwürdige, 1-geißelige, kleine Form.

Unter Berücksichtigung der vorstehend geschilderten Eigenschaften des Protozoon wäre nunmehr seine Stellung im System zu bestimmen, wobei wir dem von Doflein (l. c.) aufgestellten Schema folgen. Der Mangel eines Blepharoplasten zwingt uns, die Zugehörigkeit zur Gattung Bodo abzulehnen. Das Verhalten der Geißeln und die Verankerung derselben an ein Basalkorn bestimmen uns zur Einreihung in die Familie der Eumonadiden, die Zweigeißeligkeit weist uns in die Unterfamilie der Monadinae Stein. Hier unterscheidet sich unser Protozoon von Monas vulgaris jedoch prinzipiell dadurch, daß bei letzterer die Geißeln je 1 Basalkorn besitzen, während in unserem Falle beide Geißeln aus einem einzigen Basalkorn entsprießen. Die Bezeichnung „Monas urinaria“ scheint uns daher mit Rücksicht auf Morphologie und Fundort entsprechend. Monas urinaria wäre im System zu fixieren wie folgt: Stamm: Protozoa, Unterstamm: Plasmodroma Doflein, I. Phase: Mastigophora Diesing, II. Unterklasse: Zoomastigina Doflein, I. Ordnung: Protomonadina Blochmann, 1. Familie: Eumonadidae Doflein, 2. Unterfamilie: Monadina Stein, Gattung: Monas Ehrenberg.

Wir haben diese Protozoen im ganzen 4mal beobachtet, und zwar 2mal in dem stark eiterhaltigen Sediment von Zystitiden, 1mal bei Nephritis und 1mal bei Tuberkulose. Naturgemäß war vor allem die Feststellung wichtig, ob die Organismen im menschlichen Körper selbst zu finden, oder von außen nach der Miktion in den Harn hineingekommen waren. Dieser Verdacht war, da die Harne vor der Untersuchung bis 2 Std. gestanden hatten, wohl berechtigt, und einige morphologische Eigenschaften, so das Vorhandensein einer Vakuole und eines Zytostoms sprachen von vornherein für eine freilebende Art. So gingen wir daran, den Harn nunmehr steril durch Katheterismus zu gewinnen. Desgleichen wurde Prostatasekret sowie auch Urethralsekret genauestens mikroskopisch durchsucht. Alle diese Untersuchungen wurden — wie hervorzuheben ist — sofort nach Konstatierung des Protozoenbefundes im Sedimente durchgeführt. Da hierbei weder im steril gewonnenen Harn, noch in den genannten Sekreten irgendeine der beschriebenen Entwicklungsformen zu finden war, so scheint die Annahme vollauf gerechtfertigt, daß das beschriebene Protozoon weder kommensal, noch parasitisch im menschlichen Körper lebt, und daher nicht als Erreger einer Krankheit im Urogenitaltrakte in Betracht kommen kann, was ja vielleicht ursprünglich hätte gemutmaßt werden können.

Zusammenfassend ist mithin zu sagen:

Im menschlichen Harn findet sich zuweilen ein bodoähnliches, jedoch der Familie der Eumonadiden zuzurechnendes, 2-geißeliges Flagellat, das amöboide, zystische und mehrkernige, 1-geißelige Stadien durchläuft und außerhalb des menschlichen Körpers lebt. In Zukunft wird daher bei solchen oder ähnlichen Befunden im menschlichen Harn darauf zu achten sein, ob es sich nicht um das hier beschriebene Protozoon handelt, da eine flüchtige Untersuchung sehr leicht zu Verwechslungen, einerseits mit Bodo urinarius, andererseits mit den bekannten parasitischen Protozoen des Urogenitaltraktes führen könnte.

Wien, 28. Dez. 1918.

Nachdruck verboten.

Eine neue Cylicostomum-Art[1] (C. mucronatum) aus dem Darm des Pferdes.

Von **J. E. W. Ihle,** Tierärztliche Hochschule Utrecht.

Mit 4 Textfiguren.

In dem von der Kommission für die Untersuchung der Sklerostomiasen in Holland gesammelten Material aus dem Colon und Coecum des Pferdes (cf. Ihle) fand ich in 3 Fällen eine geringe Zahl von Exemplaren, offenbar zu einer neuen Art der Gattung Cylicostomum gehörend[2]. Eine kurze Beschreibung der neuen Art, welche ich C. mucronatum nenne, lasse ich hier folgen:

Es liegen mir 3 ♂♂ und mehrere ♀♀ vor. Die ♂♂ sind 6,5 mm lang, die ♀♀ 8 mm mit einer maximalen Dicke von 400 μ.

Die 6 Papillen, welche den Mund umgeben, zeigen nichts besonderes. Die lateralen Papillen sind kurz und stumpf, die submedianen schlank. Wie bei vielen anderen Cylicostomum-Arten ist ihr distales Ende durch eine Einschnürung vom proximalen Teile getrennt. Der

---

[1] Nach den Nomenklaturregeln ist der ältere Name Cylicostomum (Railliet 1901. p. 40) statt Cylichnostomum (Looss 1902. p. 86) zu verwenden, wie es jetzt allgemein bei den französischen Autoren üblich ist (cf. Looss 1905. p. 30. Note 1).

[2] Eine Liste der jetzt bekannten, im Pferde lebenden Cylicostomum-Arten geben Ransom und Hadwen (1918. p. 211.) Neuerdings beschrieb A. Kotlán (Diese Zeitschr. Bd. 83. S. 557—560) noch 3 neue Arten, von welchen C. calicatiforme mit einer von mir beschriebenen neuen Art (C. nanum) identisch zu sein scheint. Meine Beschreibung (Tijdschrift voor Diergeneeskunde. Deel 46. afl. 23) erschien einen Monat nach dem Aufsatz von Kotlán. (Not. während der Korrektur.)

Mundkragen ist abgeplattet und durch eine untiefe Furche vom übrigen Körper getrennt. Die äußere Blätterkrone besteht aus höchstens 8 sehr großen, mit breiter Basis versehenen, durchscheinenden Elementen, welche, wenn man das Tier von der Seite betrachtet, mehr oder weniger die Gestalt eines Trapezes oder eines Dreiecks mit abgerundeter Spitze haben (Fig. 1). Die innere Blätterkrone besteht aus 24 oder 25 breiten, aber kurzen Elementen, welche dem vorderen Rande der Mundkapsel aufsitzen. Wenn man das abgeschnittene und aufgehellte Vorderende des Tieres von vorn betrachtet, so fallen die Elemente der inneren Blätterkrone viel mehr ins Auge, als die der äußeren Krone. Die Mundkapsel hat eine nach außen konvexe, ziemlich dicke Wand. Ihre transversale Achse ist fast 2mal so lang wie die Längsachse. Bei Betrachtung des abgeschnittenen vorderen Körperendes von vorn sieht man, wie die von den Elementen der inneren Blätterkrone umgebene Oeffnung, also der vordere Rand der Mundkapsel, nicht rund ist, da ihr dorsaler Rand viel schwächer gekrümmt ist als der ventrale und seitliche. Die innere Fläche der Mundkapsel ist, wie bei den anderen Arten dieser Gattung, mit „a pale, transparent and slightly granular covering probably of chitinous nature" (Looss. 1902. p. 97) bedeckt, welches bei dieser Art eine dicke Schicht bildet, aber keine Fortsätze in das Lumen der Mundkapsel aussendet.

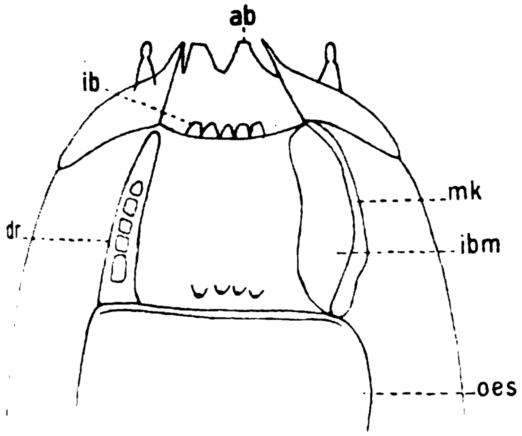


Fig. 1.

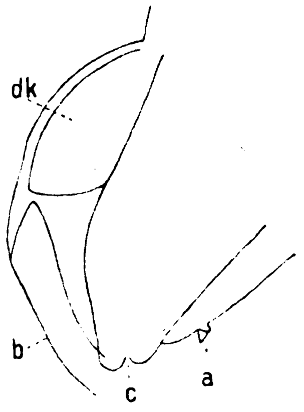


Fig. 3.

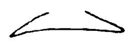


Fig. 3a.

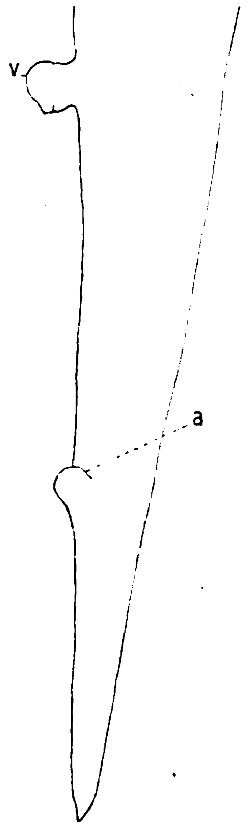


Fig. 4.

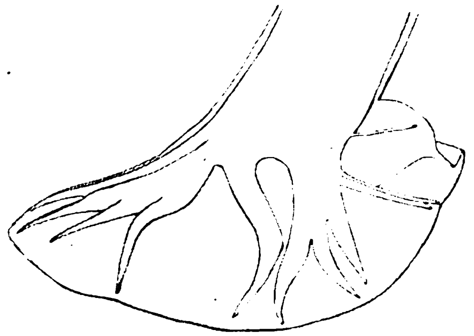


Fig. 2.

Fig. 1. Der vordere Teil des Körpers von der rechten Seite gesehen, teilweise im optischen Längsschnitt × 265 (× $^{2}/_{3}$). *ab* äußere Blätterkrone; *dr* Dorsalrinne; *ib* innere Blätterkrone, *ibm* innere Bekleidung der Mundkapsel; *mk* Mundkapsel; *oes* Oesophagus.

Fig. 2. Die Bursa copulatrix von der rechten Seite gesehen × 110 (× $^{2}/_{3}$).

Fig. 3. Genitalconus von der linken Seite gesehen × 265 (× $^{2}/_{3}$). *a* Anhänge; *b* der freie Rand der Bursa copulatrix, *c* Cloacalöffnung, *dk* Dermalkragen. Fig. 4a. Die Anhänge des Genitalconus von hinten gesehen.

Fig. 4. Das hintere Körperende des ♀ von der linken Seite gesehen × 110 (× $^{2}/_{3}$). *a* After, *v* Vulva.

Die sogenannte dorsale Rinne (dorsal gutter) ist sehr gut entwickelt und erstreckt sich fast bis zum vorderen Rande der Mundkapsel.

Der Oesophagus hat beim ♀ eine Länge von etwa 400 μ, beim ♂ eine solche von etwa 375 μ. Ein kurzer Oesophagealtrichter ist vorhanden.

Der Rand der Bursa copulatrix (Fig. 2) ist fein gezähnelt. Die Bursa ist ringsum geschlossen, setzt sich also wie eine kontinuierliche Falte auf die vordere Fläche des Dermalkragens fort. Der mittlere Lappen der Bursa ist ziemlich kurz. Die 3 paarigen Aeste der dorsalen Rippe zeigen den für Cylicostomum typischen Verlauf. Das Ende des mittleren Astes liegt am weitesten vom Rande der Bursa entfernt. Akzessorische Aeste fehlen. Die externo-dorsale Rippe entfernt sich erst weit von dem lateralen Ast der dorsalen Rippe, um sich dann wieder diesem Aste zu nähern. Von dem gemeinsamen Stamm der lateralen Rippen entfernt sich die externo-laterale Rippe, bevor sich die beiden anderen Rippen voneinander trennen. Externo- und medio-laterale Rippe sind einander mehr genähert als die divergierenden medio- und postero-lateralen Rippen. Die ventralen Rippen sind fast gerade.

Der Genitalconus (Fig. 3) hat einen gut entwickelten Dermalkragen, der sich auch auf die hintere Fläche des Conus auszubreiten scheint. Diese hintere Fläche trägt 2 transversal gestellte, spitze Anhänge (Fig. 3a). Die präbursalen Papillen sind lang.

Der Körper des ♀ verjüngt sich von der Vulva ab allmählich nach hinten und endet in eine bei schwacher Vergrößerung scharfe Spitze, weshalb ich für diese Art den Namen mucronatum vorschlage. Der After ist eine quere Spalte und liegt in bedeutendem Abstande von dem hinteren Körperende (425—525 μ). In vielen Fällen liegt er vor einer abgerundeten Papille, welche wahrscheinlich unter dem Einfluß von sich kontrahierenden Muskelfasern verschwinden kann. Viel weiter nach vorn als der After liegt die Vulva (950—1020 μ vom hinteren Körperende entfernt), welche bei den mir vorliegenden Exemplaren nach außen hervorragt.

Unter den jetzt bekannten Cylicostomum-Arten ist C. poculatum (Looss) am nächsten mit C. mucronatum verwandt. Bei beiden Arten endet der Körper des ♀ in eine scharfe Spitze, aber bei C. mucronatum sind Anus und Vulva viel weiter vom Hinterende des Körpers und voneinander entfernt als bei C. poculatum. Bei beiden Arten hat die Bursa copulatrix einen gezähnelten Rand und setzt sich wie eine kontinuierliche Falte auf die vordere Fläche des Genitalconus fort. Andererseits entfernt C. mucronatum sich bedeutend von C. poculatum durch die Länge der Dorsalrinne, durch die Zahl und Gestalt der Elemente der Blätterkronen usw., während sie sich durch die geringe Zahl der Elemente der äußeren Blätterkrone und die Länge der Dorsalrinne C. calicatum (Looss) nähert, welche letztgenannte Art auch mit C. poculatum verwandt ist.

Literatur.

Ihle, J. E. W., Hexodontostomum markusi n. gen., n. sp., eine Strongylide des Pferdes. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 84.) [Noch nicht erschienen.]

Looss, A., The Sclerostomidae of horses and donkeys in Egypt. (Rec. Egypt. Governm. School of Med. 1901, 1902.)

— The anatomy and life history of Agchylostoma duodenale Dub. pt. 1. (Rec. Egypt. Governm. School of Med. Vol. 3. 1905.)

Railliet, A., Correspondance. (L'écho vétérin. 1901. p. 38—40.)

Ransom, B. H., a. Hadwen, S., Horse Strongyles in Canada. (Journ. Amer. Veterin. med. Assoc. Vol. 53. N. Ser. Vol. 6.)

Nachdruck verboten.

Ueber Darmparasiten bei Gesunden und Kranken in Shanghai.

[Aus dem pathologischen Institut der Deutschen Medizinschule in Shanghai.]

Von Prof. Dr. med. **Walther Fischer.**

Die Darmerkrankungen spielen in Ostasien eine wesentlich größere Rolle als in Deutschland. So kommt denn auch der pathologische Anatom hier zu Lande in die Lage, sich viel eingehender mit ihnen beschäftigen zu müssen, und eine seiner wichtigsten und häufigsten Aufgaben ist infolgedessen die Stuhluntersuchung. Ich will hier nicht auf die Technik solcher Untersuchungen eingehen; einiges darüber habe ich früher schon in einer Arbeit über dies Gebiet kurz gestreift[1]. Die Hauptsache ist, gründlich zu untersuchen, nämlich, in jedem Falle mindestens ein paar Präparate anzufertigen; ferner, für den Nachweis von Wurmeiern immer auch irgendeine dafür geeignete Anreicherungsmethode anzuwenden z. B. Zentrifugieren der in Salzsäure und Aether zerriebenen Partikel, oder eine andere Methode; und endlich, die Fäzes zu wiederholten Malen, in Abständen von einem oder ein paar Tagen, und dann wieder nach etwas längerer Pause zu untersuchen. Kann man das durchführen, so wird man erstaunt sein, wie häufig ein erstmalig gefälltes Urteil noch eine Korrektur erfährt; man wird aber auch sehen, wie manchmal ein zunächst unklares Krankheitsbild schließlich sich doch noch aufklärt, wo der Pathologe zunächst, zur Enttäuschung des behandelnden Arztes, gar nichts „Rechtes“ hatte finden können.

Ich will hier über die Untersuchungen berichten, die ich in Shanghai im Laufe der letzten 2 Jahre vorgenommen habe; weiter zurückliegende Untersuchungen will ich nicht berücksichtigen. Denn ich habe diese in der ersten Zeit meiner hiesigen Tätigkeit nicht mit der Sorgfalt ausgeführt, die ich jetzt für nötig halte, um zu einigermaßen zuverlässigen Resultaten zu kommen. Und ferner, man braucht für die Diagnose von Amöbeninfektionen reichliche Erfahrung, die man eben in Deutschland sich nicht aneignen kann, und noch weniger aus Büchern zu schöpfen vermag.

Das hier berücksichtigte Material ist dieses:

1) Stuhluntersuchungen bei 300 Europäern und Mischlingen (halfcastes, meist Mischungen von Portugiesen und Chinesen; ihre Zahl beträgt in dem untersuchten Material übrigens noch nicht ein Zehntel). Es handelt sich fast ausnahmslos um Leute, die Darmbeschwerden irgendwelcher Art hatten, deren Stuhl daher zur Untersuchung kam. Fast alle diese Fälle sind wiederholt untersucht worden, manche die ganzen 2 Jahre lang in längeren Intervallen.

2) Als eine Art von Kontrollmaterial kann dienen die Untersuchung der Fäzes von 108 deutschen Militärpersonen, nämlich Sanitätspersonal, das während eines oder mehrerer Jahre in Ostasien gewesen war (Tsingtau, Tientsin etc.), die Belagerung von Tsingtau mitgemacht hatte

---

1) Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. 18.

und jetzt im Mai und Juni 1915 über Amerika nach Hause befördert wurde. Dieser Transport erfolgte auf Dampfern der amerikanischen Pacific-Maillinie von Shanghai aus; da für diese Passagiere der Nachweis zu erbringen war, daß sie frei von Uncinariosis, das heißt von Ankylostomeninfektion sind, wurde hier im pathologischen Institut die Untersuchung von Fäzes vorgenommen. Dabei wurde nicht bloß auf das etwaige Vorhandensein von Ankylostomen geachtet, sondern überhaupt auf die Anwesenheit von Parasiten etc.; nur konnte nach der Lage der Dinge die Untersuchung nicht so eingehend sein, auch nicht wiederholt werden, wie bei dem erstgenannten Material. Die gefundenen Resultate sind daher als Mindestwerte anzusehen — aber wir werden sehen, sie sind interessant und wichtig genug.

3) Endlich wurden untersucht 200 Chinesen, teils Gesunde, teils Kranke: nämlich Insassen des Paulunspitals, das als Klinik der deutschen Medizinschule dient. In einem großen Teil dieser Fälle wurden mit den Stuhluntersuchungen gleichzeitig Blutuntersuchungen vorgenommen, worüber an anderem Orte berichtet worden ist[1]).

Von vornherein wird man annehmen können, daß in Ostasien Europäer häufiger mit Darmparasiten infiziert sein werden, als es zu Hause in Deutschland der Fall ist. Zwar leben die Europäer in Shanghai ja in relativ hygienischen Verhältnissen, aber um so weniger ist das der Fall bei den Chinesen. Der Chinese, mit dem der Europäer hier zumeist in Berührung kommt, ist persönlich recht wenig reinlich; das gilt für den Boy und den Koch wie für den Kuli. Dann aber besteht hier eben noch eine beträchtliche Gefahr, mit mancherlei Darmparasiten infiziert zu werden, durch die landesübliche Art der Düngung der Gemüsebeete, Erdbeerkulturen und was da alles noch in Frage kommt. Darin sind nun allerdings, wenn wir ehrlich sein wollen, die Verhältnisse z. B. in Süddeutschland auch nicht wesentlich anders, aber die Zahl der mit Würmern z. B. Infizierten ist ja eben auch in Süddeutschland enorm groß, wie den Pathologen die tägliche Erfahrung am Sektionstisch lehrt, und es bestehen da wesentliche Unterschiede gegenüber den Verhältnissen in Norddeutschland. Eine weitere Infektionsquelle hier zu Lande ist nun auch das oft unglaublich verseuchte Wasser der Pfützen, Kanäle und „Creeks“, in dem die Chinesen aber ohne Scheu direkt ihren Reis waschen, mit dem sie z. B. auch das Obst vor dem Verkauf reinigen, usw. Jedenfalls ist die Möglichkeit der Infektion selbst bei der größten persönlichen Sauberkeit recht groß und größer als in Deutschland, wenn ich auch durchaus nicht der Ansicht bin, die die meisten Deutschen im Auslande haben, daß sie nämlich Deutschland — und besonders die deutsche Hausfrau, und die Köchin — für so exemplarisch sauber halten.

Es ist hier im Osten vielfach üblich, in gewissen Zeiträumen, alle Jahre 2 oder 3mal, etwas Santonin zu nehmen, „für alle Fälle“; da hierdurch ja einige Parasiten mit ziemlicher Sicherheit abgetrieben werden, so wird bei solchen Leuten natürlich die Stuhluntersuchung viel kleinere Infektionsziffern ergeben, was für die im folgenden mitzuteilenden Zahlen einigermaßen in Betracht zu ziehen ist.

Zunächst seien die Infektionen mit Rundwürmern besprochen:

1) Askariden, Spulwürmer. Bei den 300 Fällen fanden sich Askarideneier nur 17mal, also bei 6 Proz. Bei Chinesen ist die Ziffer

---

[1]) Deutsch. med. Wochenschr. 1916.

schon bedeutend höher, nämlich 51mal bei 200 Fällen, oder bei $^1/_4$ aller Untersuchten.

Grade Askariden sind ja leicht abzutreiben, und wenn irgendwie im Publikum Verdacht auf Würmer besteht, so nimmt es hier oft Santonin sogar ohne ärztliche Anweisung; so mag die verhältnismäßig recht niedrige Zahl der Infizierten zu erklären sein. Streng genommen ist die Zahl übrigens auch nicht richtig, denn sie besagt ja nur, wie häufig die betreffenden Wurmeier im Stuhle zu finden sind; es kann aber ein Mensch trotzdem infiziert sein, auch ohne daß er Wurmeier im Stuhle hat.

Bei dem Kontrollmaterial, d. h. den 108 gesunden Soldaten, fanden sich Askariden ein klein wenig häufiger, als bei den anderen Europäern; nämlich 11mal, also etwa bei $^1/_{10}$. Daß bei den Soldaten überhaupt die Zahl der mit Würmern Infizierten größer sein werde, als bei den hiesigen Europäern, ist einigermaßen wahrscheinlich, da die letzteren doch im ganzen in hygienisch besseren Verhältnissen leben.

2) Trichocephalen. Die Infektion mit diesen Parasiten ist auch hier, wie auf der ganzen Erde, recht erheblich: bei den Europäern sind 23 Proz. infiziert (69 Fälle), bei den Chinesen etwas mehr, nämlich 30 Proz. Die Infektion ist aber wohl klinisch immer bedeutungslos, und auch meist recht gering; es bedarf oft zahlreicher Untersuchungen, um in den angereicherten Präparaten ein Ei zu finden. Bei den Sanitätsmannschaften habe ich Trichocephalen nur 7mal gefunden; aber diese Zahl ist sicher zu niedrig, da eben nur eine einmalige Untersuchung ausgeführt werden konnte, und meist auch kein Anreicherungsverfahren zur Anwendung kam. Wie die Erfahrung hier lehrt, ist die übliche Behandlung dieser Wurminfektion mit den üblichen Mitteln völlig wirkungslos; wenigstens habe ich hier in keinem Falle nach einer solchen Behandlung die Eier aus dem Stuhl verschwinden sehen.

3) Oxyuren. Ueber die Häufigkeit dieser Infektion können Stuhluntersuchungen bekanntlich kein Urteil geben, und so hat es keinen Zweck, zu sagen, wie oft Oxyureneier angetroffen wurden. Aber es ist interessant, zu wissen, daß Oxyuren hier, sowohl bei Europäern wie bei Chinesen, geradezu eine Seltenheit sind. Ich habe auch bei keiner einzigen Sektion hier und in keinem einzigen der vielen exstirpierten Wurmfortsätze jemals eine Oxyuris angetroffen.

4) Ankylostomen. Unter den 300 Europäern habe ich Ankylostomeninfektion nur 4mal gefunden, und immer handelte es sich um so spärliche Eier, daß an eine klinisch irgendwie in Erscheinung tretende Infektion nicht zu denken war, wie denn auch der klinische weitere Verlauf ergab. Für Europäer hier in der Stadt ist ja auch die Möglichkeit der Infektion recht gering, und auch für den Chinesen ist sie hier in der Stadt — für andere Gegenden gilt das keineswegs — recht unbeträchtlich. So fand ich denn auch bei den Chinesen nur 8mal Ankylostomeneier, oder in 4 Proz. Schon nicht allzufern von Shanghai ist die Infektion viel verbreiteter; schwere Infektionen, d. h. wirklich krankmachende Infektionen, sind übrigens auch da, ebenso wie zumeist in Japan, nicht so häufig. Das ist erst der Fall in Südchina, auch Szechuan etc., wo dann allerdings die Zahl der Infizierten oft 50 Proz. übersteigt, und dann auch die Zahl der eigentlich Kranken sehr groß ist. Die untersuchten Sanitätsmannschaften erwiesen sich alle frei von Ankylostomen.

5) Strongyloides (Anguillula). Diesen Parasiten habe ich bei Europäern hier nie gefunden, bei Chinesen nur 2mal. In Südchina,

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

zumal aber in Indochina, ist er ja sehr viel häufiger, und spielt wohl auch eine gewisse pathogene Rolle, wenngleich die Arbeiten hierüber, zumal die aus Indochina, sehr wenig kritisch sind. Ueber Bandwürmer ist sehr wenig zu berichten.

Es ist aber wahrscheinlich, daß bei Europäern, die Zeit ihres Lebens in Ostasien, d. h., in Shanghai, gelebt haben, die Zahl der Tänien sehr gering sein wird. Ich habe hier bis jetzt nur Taenia saginata gesehen, in Tsingtau ist auch Taenia solium beobachtet worden, offenbar eingeschleppt. Bei den Chinesen habe ich bis jetzt noch nie Tänien gesehen, und höre auch, daß sie beim Volke hier in der Gegend so gut wie unbekannt sind. Einen Fall von Dibotriocephalus latus, und zwar eben aus Finnland importiert, habe ich hier beobachtet.

Von den Saugwürmern spielen hier in China einige eine gewisse Rolle. In erster Linie ist zu nennen: Clonorchis sinensis (= Distomum spathulatum). In dem europäischen Material habe ich Infektion mit diesem Parasiten 6mal gefunden; nun ergab sich aber das Interessante, daß alle diese Fälle tatsächlich Mischlinge waren! Ob bei Europäern überhaupt schon Infektion mit Clonorchis festgestellt worden ist, entzieht sich meiner Kenntnis; soviel ich weiß, 1mal bei einem Europäer im Jangtsetal, aber das könnte ja auch ein halfcaste gewesen sein, da diese in den Statistiken etc. stets als Europäer zählen. Bei den untersuchten Sanitätsmannschaften fand sich ebenfalls keiner mit Clonorchis infiziert, dagegen eine ganze Anzahl von Chinesen, nämlich 14, also 7 Proz. Es handelte sich, wie zumeist in diesen Fällen, nur um ganz leichte oder mittelschwere Fälle. Die Infektion erfolgt, wie bei dem verwandten Opistorchis felineus (= Distomum felineum oder sibiricum) — das in Ostpreußen nicht so ganz selten gefunden wird — durch den Genuß rohen Fischfleisches, wie es z. B. in Japan und in China vielfach als Delikatesse genossen wird. Da Europäern dies Gericht in der üblichen Zubereitung meist nicht zusagt — es schmeckt übrigens ausgezeichnet, oder kann es wenigstens — so erklärt sich auch, warum sie von der Infektion verschont bleiben; denn es kann unmöglich ein Zufall sein, daß in meinem großen Material die 6 positiven Fälle gerade half-castes betreffen. Eine besondere Rassendisposition wird für diese Infektion gewiß nicht bestehen, vielmehr hängt das einfach mit der Ernährung zusammen; sie essen diese rohen Fische, die Europäer nicht.

Da die Eier von Clonorchis sehr klein sind, übersieht sie der Ungeübte leicht. Ich fand hier, daß in zentrifugierten Stuhlpräparaten nach Behandlung mit Salzsäure und Aether sich gerade diese Eier immer sehr gut nachweisen lassen; wo man in frischen Präparaten höchstens ein einziges fand, fand man so oft deren 20.

Infektionen mit Schistosomum japonicum, der japanischen Bilharzia, die übrigens nie Blasenerscheinungen macht, habe ich nur 1mal bei einem Chinesen gesehen, wo sie zu einer Darmstriktur geführt hatte[1].

Von anderen Trematoden kann ich nur 2 Fälle von Infektion mit Fasciolopsis Buski, beide bei Chinesen anführen. Fasciola hepatica (= Distomum hepaticum) habe ich noch nie gefunden.

Ueber Infektion mit Flagellaten ist nicht allzuviel zu berichten. Trichomonas intestinalis wurde bisweilen beobachtet, vegetative

---

[1] Zusatz bei Korrektur: Späterhin habe ich mehrere Fälle bei Chinesen und 2 bei Europäern beobachtet.

Formen bei Europäern 7mal, bei Chinesen 4mal, also bei beiden Kategorien etwa gleich häufig. Und zwar wurden sie immer in großen Mengen und in diarrhoischen Stühlen angetroffen, um dann ebenso rasch nachher wieder zu verschwinden. Andere Flagellaten, deren Spezies ich noch nicht genau ausmachen konnte, habe ich bei Europäern noch 5mal, bei Chinesen noch 4mal angetroffen, wieder unter den gleichen Umständen, nämlich in diarrhoischen Stühlen. In festen dagegen nie. In den Lehrbüchern ist zumeist die Ansicht vertreten, daß eben die Flagellaten in diarrhoischen Stühlen besonders günstige Lebensbedingungen finden, jedoch als eigentlich pathogen nicht zu betrachten seien. Mein hiesiges Material ist zur Entscheidung dieser Frage wohl noch zu klein, aber nach meinen Befunden bekommt man doch die Ansicht, daß der Zusammenhang solcher Diarrhöen (fast immer im Sommer) mit dem massenhaften Auftreten von Flagellaten doch auf ursächliche Beziehungen zwischen beiden hinweist. Ueber die Häufigkeit von Flagellatenzysten habe ich leider keine genauen Aufzeichnungen gemacht.

Lamblien habe ich bei den Europäern 12mal gefunden, davon 10mal in enzystiertem Zustand, und immer in sehr reicher Menge. In der Mehrzahl handelte es sich um weiche oder auch diarrhoische Stühle, nur 4mal um fest geformte. Auch bei den Chinesen fand ich Lamblien (enzystierte) etwa gleich häufig, nämlich in 7 Fällen. Auffallend war der Befund bei den Sanitätsmannschaften. Von diesen 108 Leuten hatten nicht weniger als 18 — also etwa 16 Proz. — Lamblienzysten, sowohl in hartem als in breiigem oder weichem Stuhl. Diese hohe Zahl ist wohl so zu erklären, daß die Soldaten sich, wie das ja leicht erklärlich ist, vermutlich alle bei der gleichen Gelegenheit infiziert hatten. Es wäre wohl interessant, in Zukunft auf Lamblieninfektionen zu achten; es wird wenigstens den vegetativen Lamblienformen eine gewisse pathogene Bedeutung, vermutlich ganz mit Recht, zugeschrieben. Ich erwähne noch, daß etwa bei $1/4$ der mit Lamblien Infizierten (in allen 3 Kategorien) sich auch Dysenterieamöbenzysten fanden. Wie häufig in Deutschland Infektionen mit Lamblien sind, ist mir leider nicht genügend bekannt. Ich finde hier nur eine Angabe von M. Hetzer, wonach unter 427 Fällen 11mal Lamblienzysten sich gefunden haben, also etwa in 3 Proz., was ziemlich mit meinen Befunden bei den Europäern und Chinesen übereinstimmt.

Ciliaten sind ebenfalls einige Male angetroffen worden, nämlich Balantidium coli 1mal, bei einem Europäer; und andere nicht genauer festgestellte Ciliaten bei Europäern und Chinesen je 3mal. Ein paar Mal habe ich auch Ciliaten gesehen, die, soweit ich es feststellen konnte, identisch waren mit dem, was als Uronema caudatum von Martini beschrieben wurde, sowie einige Male Prowazekia. Nach den klinischen Befunden zu schließen, konnte in diesen Fällen (mit Ausnahme des Falles mit Balantidien) keine sichere oder wahrscheinliche Beziehung zwischen einer Darmaffektion und den Ciliaten festgestellt werden.

Wir kommen endlich zu denjenigen Darmparasiten, die für Ostasien, und zumal für Shanghai, weitaus die hervorragendste Bedeutung haben, nämlich den Amöben. Die Bedeutung und Verbreitung der Amöbendysenterie ist erst in den letzten Jahren so recht deutlich geworden; ja man kann sogar noch in modernen Lehrbüchern die Angabe finden, daß Amöben bei der Dysenterie eine nur unbedeutende Rolle spielen, und längere Zeit hindurch ist ja die pathogene Bedeutung der Amöben überhaupt von manchen geleugnet worden. Nun, heute wird sie wohl rückhaltlos doch von allen anerkannt, und wer vielleicht noch Zweifel daran hegt, dem würde eine Untersuchung von akuten und chronischen Dysenteriefällen hier in den verschiedenen Phasen der Krankheit mit voller Sicherheit von der pathogenen Rolle der Amöben überzeugen. Daß diese durch histologische Befunde, wie auch durch Fütterungsversuche am Menschen selbst ganz außer allen Zweifel gestellt ist, brauche ich aber wohl kaum mehr zu erwähnen. Zuerst nun ein paar Zahlen. Sie sollen zeigen, welche Rolle unter den Darmkrankheiten hier die Dysenterie spielt. Bei den 300 Europäern fand sich eine Infektion mit Dysenterieamöben insgesamt 90mal, oder in vollen 30 Proz. der Fälle! Nämlich 45mal fanden sich vegetative Amöben — immer in den bekannten blutigschleimigen oder auch bloß schleimigen Stühlen.

Zysten der pathogenen Amöbe — die sogenannten Tetragenazysten — fanden sich in 56 Fällen; da nun 11mal gleichzeitig Zysten und vegetative Formen angetroffen wurden, macht das insgesamt 90 Infizierte. Bei diesem Europäermaterial handelte es sich, wie oben erwähnt, eben in der Hauptsache um Fälle mit irgendwelchen Darmaffektionen, oder Verdacht auf solche: so würde die absolute Zahl nicht eben viel sagen, aber etwas sieht man doch daraus: wie überaus häufig es sich hier zu Lande bei Darmaffektionen um Infektion mit Dysenterieamöben handelt. Bei dem chinesischen Material, in dem viel mehr Gesunde und Nichtdarmkranke vertreten sind, ist die Zahl der mit Amöben Infizierten natürlich geringer: vegetative Amöben fanden sich in 13 Fällen, Tetragenazysten in 20 Fällen; insgesamt erwiesen sich infiziert (da 1mal vegetative Formen mit Zysten gleichzeitig vorhanden waren 32 von 200 oder 16 Proz. Berücksichtigt man, daß dies chinesische Material eben etwas anders zusammengesetzt ist, als das europäische, so wird man finden, daß der Unterschied in der vermutlichen Häufigkeit der Infektion bei diesen beiden Klassen gar nicht sehr groß sein wird. Jedenfalls ergibt sich, daß beide in sehr erheblichem Maße mit Amöben infiziert sind.

Meine hiesigen Untersuchungen haben vor allem auch eines gezeitigt: daß die Zahl der chronischen Dysenterien und der larvierten Dysenterien hier zu Lande ganz erheblich groß ist. Das geht fast so weit, daß wir hier jetzt bei jedem einigermaßen unklaren Falle von chronischen Darmstörungen zunächst einmal genau auf das Vorhandensein von Dysenterieamöben oder -zysten fahnden und die Behandlung dann entsprechend eingerichtet wird. Durch die systematische Untersuchung und vor allem durch die fortgesetzte Untersuchung einzelner Fälle über lange Zeit hin hat sich eben mit absoluter Sicherheit gezeigt, wie außerordentlich häufig die Amöbendysenterie in den subakuten und chronischen Stadien unter ganz verschiedenen klinischen Bildern verläuft; und ferner die große Wichtigkeit, das Vorhandensein von enzystierten Formen nachzuweisen. Es ist heute durch die Untersuchungen einer Reihe verdienter Forscher festgestellt, daß die Infektion mit Dysenterie wohl nur durch Zysten erfolgt; um so wichtiger war es, zu wissen, wie häufig nach dem Ueberstehen einer akuten Amöbendysenterie nachher bei den Patienten noch Zysten zu finden sind, und wie häufig Cystenträger oder Dauerausscheider sind. Ich habe über diese Fragen schon ausführlich an anderen Orten berichtet. Hier genüge es, zu sagen, daß beides sehr viel häufiger ist, als man früher annahm.

Es ist etwas ganz Gewöhnliches, daß eine akute Amöbendysenterie

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

klinisch ausheilt, daß aber im Stuhl noch immer Zysten zu finden sind; diese Fälle sind es, die dann so häufig unter vagen Darmbeschwerden leiden, die auch z. B. in der kalten Jahreszeit plötzlich wieder ein akutes Rezidiv bekommen. Aufs allerdeutlichste haben mein Kollege Dold und ich in Tsingtau während der Belagerung das im Lazarett verfolgen können, wo wir ja eine erhebliche Menge akuter Amöbendysenteriefälle hatten, die ganz systematisch, auch nach Ablauf der akuten Erscheinung, immer noch mikroskopisch untersucht wurden. In einer ganz erheblichen Menge der Fälle blieben eben da noch wochenlang, trotz klinischer Heilung, Zysten im Stuhl, und Rezidive sind denn auch nicht ausgeblieben. Was für die Frage der Infektion ebenfalls von größter Wichtigkeit ist, ist die Feststellung, daß hier zu Lande eine große Menge von Dauerausscheidern und von Zystenträgern vorkommt. In meinem Material ist eine ganze Menge von Leuten, die klinisch nie eine Dysenterie durchgemacht haben, und doch dauernd Zysten in ihrem Stuhl haben. In dieser Hinsicht war es nun besonders wichtig, daß ich Gelegenheit hatte, die deutschen Sanitätsmannschaften vor dem Abtransport nach Hause zu untersuchen. Diese Leute sind alle mehr denn 1 Jahr, die meisten 1 ½ und 2 ½ Jahre hier in Ostasien gewesen, an Orten, wo Amöbendysenterie endemisch häufig vorkommt — denn Tsingtau war in dieser Hinsicht nicht — wie bisweilen behauptet wurde —, viel günstiger dran, als Shanghai. Manche von diesen Leuten haben Dysenterie in dieser Zeit gehabt, und für manche mag vielleicht, während der Zeit der Belagerung von Tsingtau z. B., die Gefahr der Infektion größer gewesen sein, als bei den anderen Europäern. Da ich indes bei den genannten Sanitätsmannschaften nur eine 1malige Untersuchung vorgenommen habe, können mir leicht in einem Fall Zysten entgangen sein; kurzum dies Material kann sehr wohl als eine Art von Kontrollmaterial dienen: wir würden diese, als gesunde Europäer, — denn zur Zeit der Untersuchung waren sie alle klinisch gesund. — denen der ersten Kategorie, den kranken Europäern, gegenüberstellen. Von diesen 108 Gesunden fanden sich nicht weniger als 10 mit Tetragenazysten behaftet; 4mal Zysten in ganz festem, 6mal in dickbreiigem Stuhl. Es wären also etwa 9 Proz. nach längerem Aufenthalt in Ostasien mit Zysten von Dysenterieamöben infiziert, sei es als Dauerausscheider, sei es als Zystenträger. Das ist sicher sehr bemerkenswert, und selbst, wenn die Zahl noch etwas zu hoch sein sollte, was ich indes gar nicht annehme, so stimmt sie aufs beste überein mit den Erfahrungen, die ich an dem hiesigen Europäermaterial gemacht habe: denn auch da waren ja 56, also sogar 18 Proz., mit Zysten behaftet. Da dies Material nun eben vorzugsweise Darmkranke umfaßt, ist diese Zahl von 18 Proz. nicht auf die Gesamtheit der Europäer hier übertragbar. Aber sie zeigt ja genau das gleiche, wie der Befund bei den Gesunden: wie enorm häufig eben hier in Ostasien eine Infektion mit Amöbendysenterie ist, wie häufig nach einer akuten Dysenterie noch etwas nachbleibt, und wie häufig auch die unbewußte, latente Infektion, bzw. die Ausscheidung von Zysten durch „Gesunde“ ist. Wie wichtig diese Tatsachen in Hinsicht auf die Infektion mit Amöbendysenterie und auf die Prophylaxe sind, will ich hier nicht weiter erörtern.

Es muß noch hinzugefügt werden, wie häufig die nicht-pathogene Amöbe, die Entamoeba coli und ihre Zysten, angetroffen werden. Vegetative Formen der Entamoeba coli bei den Europäern nur

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

3mal (1 Proz.), Coli-Zysten 7mal (2 Proz.); Coli-Zysten gleichzeitig mit Tetragenazysten 3mal. Bei dem Chinesenmaterial: vegetative Coli-Amöbe 2mal (1 Proz.), Coli-Zysten 5mal (2 Proz.; 3mal mit Tetragenazysten gleichzeitig). Bei den Sanitätsmannschaften fand ich Coli-Zysten etwas häufiger 5mal (3mal mit Tetragenazysten). Im ganzen sind diese Zahlen recht niedrig, so daß man demgemäß in der Regel hier bei positivem Befund von Amöben und Zysten solche der pathogenen Art vor sich hat. Die Differentialdiagnose ist für den Ungeübten bisweilen recht schwer, sogar für den Spezialisten manchmal, wenn man ehrlich sein will, ganz unmöglich: da ist es sicher zunächst das Gescheuteste, sich im Zweifelsfalle hier zu Lande für die pathogene Amöbe zu entscheiden. — Die Angaben über die Häufigkeit der Entamoeba coli in Deutschland sind in den einzelnen Quellen so verschieden, stammen aus etwas verschiedenen Zeiten, daß es eigentlich wünschenswert erscheint, nun diese Frage gründlich zu studieren. Ich finde aus neuester Zeit nur die Angabe bei M. Hetzer, daß in Bonn in Stühlen Entamoeba coli in 427 Fällen 24mal, also in etwa 5 Proz. angetroffen wurde; 15 Fälle davon stammen aus einer Irrenklinik, und es ist daher nicht unmöglich, daß diese Zahlen demnach für die Allgemeinheit noch etwas zu hoch sind. Jedenfalls wäre diese Zahl nicht allzu verschieden von den hier gefundenen Werten.

Die fortgesetzten mikroskopischen Stuhluntersuchungen haben mir hier doch manche recht wichtige und interessante Tatsachen ergeben; aber die daraufhin neu sich aufdrängenden Fragen sind zahlreich, und manche von ihnen können nicht entschieden werden, ehe nicht aus Deutschland selbst Untersuchungen an größerem Material vorliegen. Vielleicht regen die hier mitgeteilten Tatsachen zu solcher Forschung an.

Shanghai, Herbst 1915.

Nachdruck verboten.

Die Stigmen und Trachealatrien der Anopluren (Läuse).

[Aus dem Tierärztlichen Institut der Deutschen Universität Prag.]

Von Priv.-Doz. Dr. **Ludwig Freund** (Prag).

Mit 4 Figuren im Text.

Die Anopluren besitzen als Tracheenatmer besonders gestaltete Oeffnungen des Tracheensystems, Stigmen oder Spiracula, die bei den bisherigen Bearbeitern dieser Insektengruppe keine wesentliche Beachtung gefunden haben. Nur Stroebelt, Mjöberg und neuestens Müller gehen auf die Stigmen und deren Bau etwas näher ein.

Ihre Anordnung auf dem Körper der Anopluren ist allgemein bekannt. So findet sich ein Paar größerer Stigmen dorsal auf dem Mesothorax. Bezüglich der Pediculinen verweist Mjöberg darauf, daß sie weiter oral liegen, so daß man auch hier von einem prothorakalen Paar sprechen könnte. Außerdem findet sich ein Paar auf dem Mesothorax bei den Echinophthiriiden sowie bei der Lepidophthiriidengattung Lepidophthirus Enderl. Das Vorkommen dieses 2. Paares registrieren seit Enderlein, Dalla-Torre und Mjöberg. Müller hat dann bei Pediculus corporis ein reduziertes metathorakales Stigma als helles Pünktchen an Larven-Exuvien entdeckt, bisweilen auch an ausgewachsenen Exemplaren gesehen und betont, daß es bisher von allen Autoren übersehen worden ist. Ich habe das gleiche bei Haematopinus macrocephalus gefunden, und zweifele nicht, daß es sich bei weiterem Nachsuchen auch noch bei anderen Anopluren finden wird. Das erwähnte normale Vorkommen eines 2. thorakalen Stigmenpaares bei gewissen Anopluren, das von Müller nicht zitiert wird, beleuchtet solche Befunde reduzierter Stigmen zur Genüge.

Auf dem Abdomen liegen die Stigmen jederseits dorsal am Seitenrande des 3.—8. Segmentes, so daß 6 Paare Abdominalstigmen gezählt werden.

Ueber den Bau, richtiger die Morphologie, beider Gruppen von Stigmen liegen bisher, wie schon Mjöberg hervorhebt, nur wenige Angaben vor, die zum Teil insoweit unrichtig sind, als sie die Befunde einzelner Arten fälschlich für alle Anopluren generalisieren. Vor allem ist zu betonen, daß mit „Stigma“ eigentlich nur die Oeffnung selbst bezeichnet werden kann. Davon wohl zu unterscheiden und gesondert zu bezeichnen ist ein verschiedenartig erweiterter Abschnitt, der von der Oeffnung zu dem zugehörigen Tracheenzweige führt und von diesem durch einen Verschlußapparat getrennt ist. Mjöberg nennt ihn „Stigmasack“, Müller sagt, daß sich das Luftloch „zunächst in einen Hohlraum erweitere, während Stroebelt das ganze Gebilde fälschlich mit der Bezeichnung „Stigma“ belegt. Es handelt sich tatsächlich bei allen Anopluren um Stigmata und anschließende Stigmal-, Spirakularsäcke, richtiger Trachealatrien, welch letzteren vornehmlich ein besonderer Bau zukommt, so daß fast nur bezüglich dieser von einer ausführlichen Morphologie die Rede sein kann. Am Uebergang in die Trachee findet sich der von Landois beschriebene Verschlußapparat, auf dessen Bedeutung Krancher aufmerksam gemacht hat. Näher sind später Stroebelt und Mjöberg auf ihn eingegangen. Auch Müller kommt auf ihn zu sprechen, der aber nur auf Landois zurückkommt.

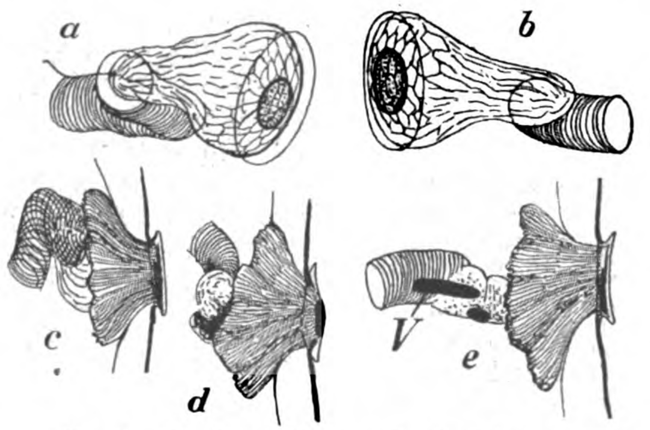


Fig. 1. Trachealatrien von Pediculus capitis. a, b thorakal, c, d, e abdominal. Seitenansicht. V Verschlußapparat. Vergr. 255.

Schon Stroebelt findet, daß die thorakalen Atrien größer sind als die abdominalen, was auch Mjöberg betont, ersterer fügt noch (für Lingnathus vituli) den Formunterschied zwischen beiden hinzu. Was Mjöberg weiter über die Innenskulptur der Atrien anführt, hat aber keine allgemeine Geltung, wie man nach der Fassung des Textes annehmen könnte. Vielmehr zeigt es sich, daß den verschiedenen Gattungen ein besonderer Bau der Atrien zukommt. Wir wollen im folgenden vorerst einige Proben in Wort und Bild vorführen:

Von der wichtigsten Familie, den Pediculidae, untersuchte ich die Genera Pediculus (capitis und corporis) und Phthirus

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

(pubis, Fig. 1a—e). So sehr die beiden Genera im Aussehen verschieden sind, so sind doch auffallenderweise die Trachealatrien vollständig gleich. Untereinander sind die thorakalen und abdominalen wesentlich verschieden. Die abdominalen Atrien (Fig. 1c—e) sind ungefähr kegelstumpfförmig mit konisch konvexem Boden. Der Kegelmantel ist mit unzähligen, feinen Längsrippchen besetzt, dem ganzen Atrium ein fein streifiges Aussehen verleihend. Der Kegelstumpf durchdringt die Kutikula, steht etwas vor und mündet mit kreisförmigem Stigma, von einem mäßig breiten Zirkularkragenteller umgeben. Im Zentrum des emporstehenden Bodens setzt sich eine S-förmig gebogene, häutige Zwischenröhre an, welche in die eigentliche, mit chitinigen Spiralen versehene Trachee übergeht, wobei sich an der Uebergangsstelle der von Landois her bekannte Verschlußapparat (Fig. 1e *V*) vorfindet.

Ganz anders sind die thorakalen Atrien (Fig. 1a, b) geformt. Sie sind nicht nur doppelt so groß als die abdominalen, sondern sind auch birnförmig, dem kugeligen Teil der Birne der Kutikula zugekehrt. Der zugespitzte Teil schließt sich an die Trachee an. Im kugeligen Teile finden sich Leistchen, die quergestellte, gestreckte, polygonale Felder begrenzen, während sie gegen den zugespitzten Teil nur unregelmäßig längsgestellt werden, wobei die Felderung verloren geht. Auch hier findet sich um das rundliche Stigma der etwas breitere Kragenteller.

Eine Beschreibung der „Stigmen“ von Pediculus corporis findet sich bei Müller. Er sieht den Kragenteller, welcher nach ihm „sich in einer leichten Einsenkung der Körperoberfläche befindet und kaum über die letztere vorspringt“. Die Seitenansicht meiner Präparate zeigt das Abstehen des Kragentellers ganz deutlich. Das Luftloch führt ferner „in einen zwiebelförmig oder knospenartig erweiterten Hohlraum“. Dieser Vergleich stimmt weder für die abdominalen, noch für die thorakalen Atrien. Schließlich findet er die „Chitinintima mit zahlreichen, das Lumen fast gänzlich ausfüllenden, haarförmigen Auswüchsen versehen“. Das konnte ich in keinem Objekt der Pediculidae sehen, da ich immer nur, auch mit den stärksten Vergrößerungen, Leistchen der beschriebenen Art und Anordnung wahrgenommen habe. Ob Müller nur nach Schnitten (Leistchendurchschnitte) urteilte? Damit ist auch seine anschließende Deduktion, daß dieser Hohlraum mit seinen Härchen als Staubfilter diene, entsprechend zu berichtigen. Seine weitere Darstellung des Verschlußapparates lehnt sich, wie bei Stroebelt und Mjöberg, an Landois an, dessen Ausführungen er zitiert. Bei Mjöberg findet sich eine Abbildung des Atriums von Phthirus nach Landois, das die charakteristische Längsstreifung gut wiedergibt, sonst aber leider, wie alle Figuren Mjöbergs, viel zu sehr schematisiert ist (Fig. 113, Vergr. ?).

Aus der Familie der Haematopinidae konnte ich Haematopininae und Linognathinae (Fig. 2, 3) untersuchen. Die Atrien aller Genera sind von den abdominalen der Pediculinen grundsätzlich verschieden, aber auch untereinander nicht gleich. Von den Untersuchten sei zuerst Haematopinus suis angeführt. Das abdominale Atrium (Fig. 2b) ist ein länglicher Kegel, die Basis der Kutikula zugekehrt, in der Mitte von dem rundlichen Stigma durchbrochen. Die Kegelspitze geht in die Trachee über, wobei an der Uebergangsstelle wieder der Verschlußapparat (Fig. 2b *V*) zu sehen ist. Die Innenwand des Kegels ist mit zahlreichen, radiären, gröberen Haaren besetzt, welche durch den Zirkulärstreifen der Atriumwand um das Stigma herum durch-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

scheinen, so daß dieser radiär gestreift erscheint. Die thorakalen Atrien (Fig. 2a) sind ähnlich, nur größer und mehr oder weniger zusammengedrückt, so daß das Stigma in die Länge gezogen, der umgebende Randstreifen ungleich verbreitert wird. Auch von Haematopinus suis gibt Mjöberg eine sehr stark schematisierte Abbildung des Atriums (Fig. 114, Vergr. ?).

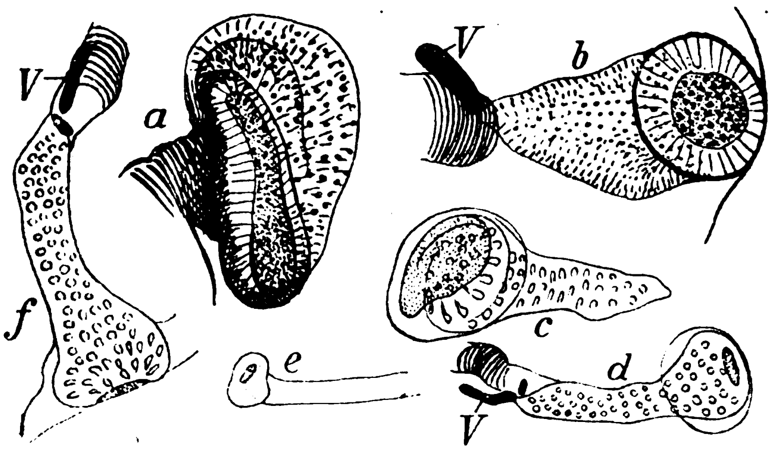


Fig. 2. Trachealatrien von Haematopinus. a thorakal dorsal, b abdominale Seitenansicht von H. suis, Vergr. 255; c thorakal, d abdominal, e reduziertes thorakales der Larve, f abdominal vom erwachsenen H. macrocephalus, Seitenansicht. *V* Verschlußapparat. Vergr. 375.

Der 2. untersuchte Haematopinus ist H. macrocephalus. Die abdominalen Atrien (Fig. 2f) sind auch sehr langgestreckt, aber das der Kutikula angelagerte Ende ist zwiebelförmig aufgetrieben und öffnet sich mit einem kleinen, rundlichen Stigma nach außen. Der röhrenförmige Teil endet zugespitzt und ist durch einen kurzen, dünnhäutigen Teil, welcher den Verschlußapparat (Fig. 2f *V*) trägt, mit der Trachee verbunden. Die Innenfläche ist mit dicken, dicht gestellten, radiären Stacheln besetzt, die gegen das Stigma zu etwas nach außen gerichtet sind. Das thorakale Atrium (Fig. 2c) ist etwas größer, das Stigma sehr groß, birnförmig, der umgebende Rand etwas verdickt. Bei Larven dieses Haematopinus sah ich das von Müller gefundene 2. thorakale, reduzierte Stigma metathorakal gelegen, an Exuvien (Fig. 2e). In der Kutikula umgibt eine etwa ovale, kleine Platte ein kleines, längsovales Loch. Ein dünner Schlauch verbindet es mit dem Tracheensystem. Die abdominalen Atrien der Larven (Fig. 2d) gleichen den Erwachsenen, nur ist die dort zwiebelförmige Erweiterung hier noch kugelig. Das abdominale Atrium eines Haematopinus eurysternus bildet Stroebelt (Taf. I, Fig. 4, Vergr. ?), ohne dies im Text zu erwähnen ab, doch ohne innere Details. Man sieht die langgestreckte Form, einige radiäre

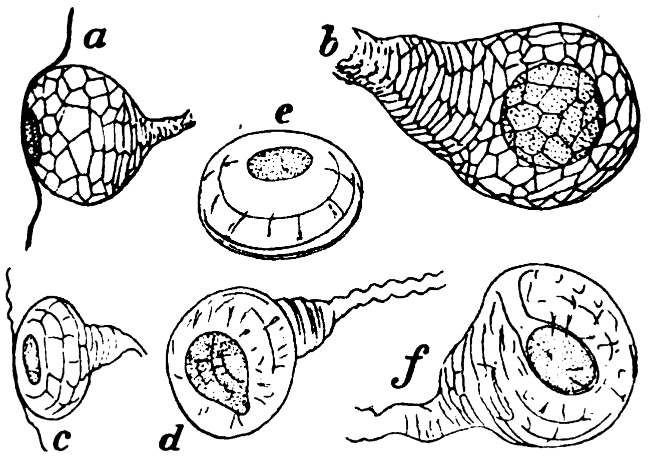


Fig. 3. Trachealatrien von Linognathus. a abdominal, b thorakal von L. piliferus, Vergr. 255; c abdominal, d thorakal der Larve, e abdominal, f thorakal des erwachsenen L. vituli. Vergr. 375. Seitenansicht.

Leistchen um das runde Stigma, in diesem selbst reusenförmige Härchen (?).

Vom Genus Linognathus lag mir L. piliferus und L. vituli vor. Die abdominalen Atrien von L. piliferus (Fig. 3a) sind kugelig, das Stigma klein, rund, die Innenfläche mit niedrigen Leistchen besetzt, welche zahlreiche, polygonale Felder einschließen, die gegen den Grund zu länglich quergestellt werden. Ein dünner Schlauch verbindet die Kugelbasis mit der Trachee. Das thorakale Atrium (Fig. 3b) ist etwa doppelt so groß, kolbig aufgetrieben. Der kugelige Körper öffnet sich durch ein großes, rundes Stigma nach außen, der kegelförmige Hals des Kolbens geht in die Trachee über. Die Innenfläche ist wieder polygonal gefeldert, im Hals in quergestellte, schmale Felder übergehend.

Linognathus vituli hat im Larvenstadium abdominale Atrien (Fig. 3c) von der Form zusammengedrückter Kugeln, deren eine Fläche sich mit einem kleinen, runden Stigma nach außen öffnet, während die andere durch ein kegelförmiges Ansatzstück in einen dünnen Verbindungsschlauch zur Trachee sich fortsetzt. Einige wenige äquatoriale Ringleistchen, durch kurze, meridiane verbunden, bilden quergestellte Felder, die gegen den kegelförmigen Ansatz schmäler und undeutlicher werden. Das thorakale Atrium (Fig. 3d) und dessen Stigma sind größer als abdominal, letzteres in einen Zipfel ausgezogen. Die Leistenbildung ist vielfach unterbrochen, die Felderung sehr undeutlich. Beim erwachsenen Tier ist das abdominale Atrium (Fig. 3e) größer als beim larvalen; die Form ist dieselbe. Innen sind die konzentrischen Leistchen deutlich, die kurzen Verbindungsleistchen undeutlich, daher ebenso die Felderung. Die thorakalen Atrien (Fig. 3f) des erwachsenen Tieres sind birnförmig, groß, mit großem, rundem Stigma. Von den Innenleisten sind die konzentrischen deutlicher als die kurzen Längsleisten, die unregelmäßig erscheinen. Daher ist die Felderung nicht ausgesprochen, nur gegen das zugespitzte wird diese deutlich. Stroebelt vergleicht die Atrien der vorliegenden Spezies mit einer geschlossenen (abdominal) bzw. aufgesprungenen (thorakal) Blütenknospe. Die Zeich-

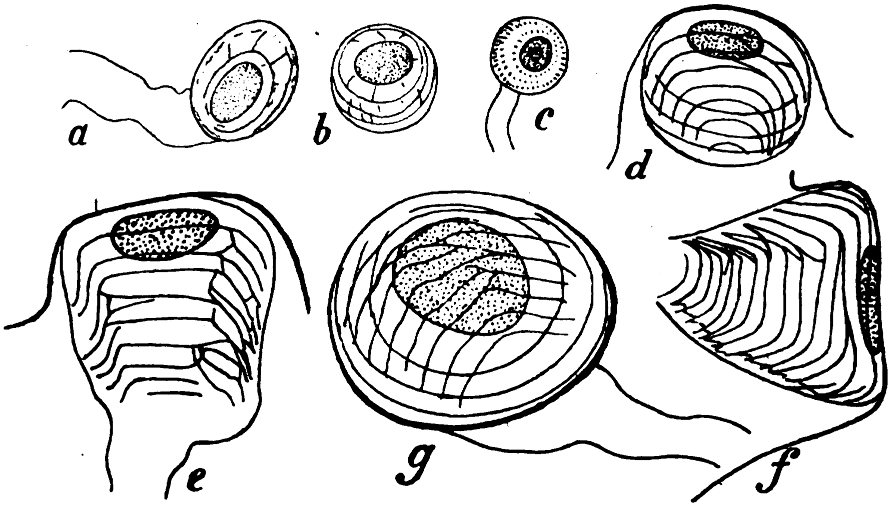


Fig. 4. Trachealatrien. a thorakal, b abdominal von Hoplopleura, Vergr. 915; c abdominal von Polyplax, Vergr. 375; d abdominal der Larve, e, f abdominal, g thorakal des erwachsenen Solenopotes capillatus. Vergr. 915.

nung (Taf. I, Fig. 3, Vergr. ?) zeigt aber eine Kugel mit Kegelschlauchansatz. Er findet: 4 Chitinringe (= Leisten), zwischen denen radiäre Furchen regelmäßige Felder herstellen; im Grunde sind feine, auswärts gerichtete Härchen. In der Zeichnung sind die 4 Ringe stark betont.

Die kleinen Atrien von Polyplax (Fig. 4c) sind kugelig, mit rundem Stigma, innen mit feinen Härchen besetzt, die in konzentrischen Kreisen angeordnet zu sein scheinen. Im Boden der Kugel führt eine kleine Oeffnung in den Verbindungsschlauch zur Trachee. Das thorakale Atrium ist etwas größer.

Bei Hoplopleura (acanthopus) sind die abdominalen Atrien (Fig. 4b) sehr klein, kugelig, mit relativ großem Stigma. Innen begrenzen konzentrische und kurze Querleisten konzentrisch gestellte Längsfelder. Die thorakalen (Fig. 4a), etwas größeren Atrien sind eiförmig, das Stigma oval, ähnlich wie bei den abdominalen angeordnete Leisten und Felder.

Bei Solenopotes (capillatus) finden wir im Larvenstadium im Abdomen (Fig. 4d) kugelige Atrien mit rundlichen Stigmen. Innen sind die Leisten zahlreich in konzentrischen Ringen angeordnet. An einzelnen Stellen sind schräge Verbindungsleisten, so daß die Ringfelder spitzig ineinandergreifen. Dasselbe ist ist bei den viel größeren thorakalen Atrien der Fall, welche ebenfalls kugelig sind, mit größerem, rundem Stigma. Vom Boden der Kugel führt ein kegelförmiger Schlauch zur Trachee. Am erwachsenen Tier wird das abdominale Atrium (Fig. 4e, f) größer und becherförmig, einem kurzen Kegelstumpf gleichend, das Stigma ist relativ größer. Die konzentrische Leistenbildung ist dichter. Das thorakale Atrium (Fig. 4g) ist, wie bei der Larve, nur größer.

Von der Subfamilie der Euhaematopininae und von den Fam. Echinophthiriidae und Haematomyzidae stand mir leider kein Material zur Verfügung. Eines der Mjöbergschen schematischen Bilder (Fig. 116, Vergr. ?) stellt das langgestreckte Atrium von Arctophthirius trichechi dar, dem aber kein Detail zu entnehmen ist. Er sagt nur, daß es zwecks Luftaufbewahrung sehr tief und groß, und wegen der aquatilen Lebensweise äußerst stark entwickelt sei.

Jedenfalls geht aber aus den bisher untersuchten Formen zur Genüge hervor, daß ein unerwarteter Reichtum in der Gestaltung der Atrien bei den Anopluren zu finden ist. Es hat dies den Anschein, als ob jedes Genus eine charakteristische Atrienbildung aufweise, welche beinahe allein zur Erkennung des Genus genügt. Keineswegs handelt es sich allgemein, wie Mjöberg schreibt, um eine durch Chitinleisten gebildete, regelmäßige Felderung, die durch den Stigmasack hindurch leuchtet und besonders bei den thorakalen, aber auch bei den abdominalen zum Vorschein kommt. Ebensowenig allgemein ist das Vorkommen von feinen Börstchen am Uebergang in die Trachee, die wahrscheinlich als Seiher für Staubpartikelchen der Luft fungierten.

Aus den wenigen mitgeteilten Befunden bei Larven geht weiter hervor, daß auch die Atrien bei der Umwandlung ins erwachsene Tier ihr Aussehen verändern. Was nun die Frage nach der Bedeutung der Atrien betrifft, so ist zweifellos ihre Aufgabe, wie alle erwähnen, die von Staubfiltern, welcher Zweck durch die verschiedenen vorgeführten Bildungen erreicht wird. Es ist nur zu verwundern, daß die so verschieden gestaltete Ausbildung der von uns Atrien genannten, an die Stigmen anschließenden Räume den bisherigen Anoplurenforschern entgangen ist.

Literatur.

Dalla Torre, K. W. von, Anoplura. (Genera Insectorum, Hg. v. Wytsman.) Brüssel 1908.

Enderlein, G., Läusestudien. I. Ueber die Morphologie, Klassifikation und systematische Stellung der Anopluren. (Zool. Anz. Bd. 28. 1904. S. 121—147.)

Kraucher, O., Der Bau der Stigmen bei den Insekten. (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 35. 1881.)

Landois, L., Ueber die eigentümliche Verschlußvorrichtung an den Tracheen der Läuse. (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 15. 1866. S. 499.)

Mjöberg, E., Studien über Mallophagen und Anopluren. (Ark. f. Zool. Bd. 6. 1910. No. 13.)

Müller, J., Zur Naturgeschichte der Kleiderlaus. (Oesterr. Sanitätswes. Bd. 27. 1915. Beil. z. No. 36/38, 47/49.)

Stroebelt, O., Anatomie und Physiologie von Haematopinus tenuirostris Burm. [In.-Diss. Münster.] Düsseldorf 1882.

Nachdruck verboten.

Verminal, ein neues Ungeziefermittel.

[Aus dem Hygiene-Institut der Universität Greifswald (Direktor: Prof. Dr. Friedberger.]

Von Dr. **Fr. W. Massur**, Assistenten am Institut.

Unter den zahlreichen Mitteln, die einer Bekämpfung des Ungeziefers dienen, haben diejenigen, die eine solche auf prophylaktischem Wege, z. B. durch Einreibungen in die Haut u. dgl. erzielen sollten, in den meisten Fällen versagt. Eine gute Wirkung zeigten nur die, welche nach Art einer Raumdesinfektion das schon vorhandene Ungeziefer durch Entwicklung tödlicher Gase vernichteten. Besonders bewährt haben sich Schwefelverbindungen und die zuerst in Amerika angewandte Blausäuremethode (nach Teichmann). Die Blausäure hat sich in vielen Versuchen als radikales Ungeziefermittel von beträchtlicher Tiefenwirkung erwiesen. Schon früher vielfach zur Reblausvernichtung und in Gaszellen zur Ungezieferbefreiung der Pferde angewandt, ist sie dann von Bail und Canzik in großangelegten Versuchen auf ihre Wirkung zur Desinfektion verlauster und verwanzter Räume in Kasernen, Baracken etc. geprüft und hat nur den Nachteil, für den Menschen nicht ganz ungefährlich zu sein. Da wiederholt Vergiftungen durch sie vorgekommen sind, ist erst neuerdings vom Ministerium des Innern[1] wieder vor der Anwendung der Blausäure gewarnt worden.

Auch der Schwefel, sonst ein vorzügliches Mittel für die Entlausung, besitzt Nachteile. Ist er auch nicht lebensgefährlich, so hat sein langes Haften in den ausgeschwefelten Räumen doch viel Unannehmlichkeiten für deren Bewohner im Gefolge. Immerhin sind aber die Ergebnisse, die man z. B. mit der Salfarkose erzielt hat, so gute, daß man das kleinere Uebel dem größeren vorzieht, zumal ersteres auch in wenigen Tagen zu beseitigen ist.

Man hat auch versucht, dort, wo die Kosten der Desinfektion zu erhebliche waren — Bekleidungsinstandsetzungsämter usw. — oder es sich um zur Desinfektion schlecht geeignete Räume handelte, das Ungeziefer durch Aushungern zu vernichten. Ist aber die Aushungerung der Läuse nach Hase schon an eine Frist von 39 Tagen (5 Tage als Grenze der noch möglichen Eiablage, 16 Tage als längste Bebrütungszeit, 11 Tage als längst mögliche Verzögerung des Ausschlüpfens und 7 Tage als längste Hungerzeit der Larven) gebunden, so ist die der Wanzen ein höchst unsicheres Mittel und durch die noch längere Lebensdauer — wir fanden Wanzen, die wochenlang zum Teil in strenger Kälte im Freien zugebracht hatten und noch ihre volle Lebensfähigkeit zeigten — praktisch wohl in wenigen Fällen anwendbar.

---

[1] Minist.-Bl. f. Med.-Ang. 1919. No. 5 vom 19. Jan.

Im allgemeinen ist man also bei der Ungeziefervernichtung auf die chemischen Mittel allein angewiesen. Als ein neues brachte die Deutsche Desinfektionszentrale Berlin-Weißensee vor einiger Zeit das Verminal in den Handel, das nach Angaben der Fabrik schon ausgezeichnete Dienste geleistet haben soll. Da bisher aber nur Erfahrungen aus der Praxis vorlagen, habe ich auf Veranlassung von Herrn Prof. Friedberger dieses Mittel einer Prüfung unterzogen. Verminal ist eine leicht gelb gefärbte Flüssigkeit; über die Zusammensetzung ist nichts bekannt, im wesentlichen enthält sie Schwefelkohlenstoff.

I.

Meine Versuche wurden den Verhältnissen in praxi angepaßt. Die ersten fanden in einem bewohnten Zimmer mit 54 cbm Rauminhalt statt. Nachdem entsprechend den Angaben der Fabrik Lebensmittel und mit Metallsaiten bespannte Instrumente entfernt waren, wurden Tür- und Fensterritzen wie auch die Ofenlöcher in der üblichen Weise abgedichtet, der polierte Tisch teilweise abgedeckt, die Matratze des Bettes aufgestellt und an einer Leine Kleidungsstücke frei aufgehängt. Mitten auf dem Boden stand der von der Fabrik gelieferte Verminalapparat, bestehend aus 2 ineinander gefügten Blechschalen, deren obere das Verminal aufnehmen und deren untere zum Schutz gegen Feuersgefahr mit Wasser gefüllt werden kann.

Als Untersuchungsobjekte dienten in der Hauptsache Läuse, Wanzen, Schwaben und Bakterien. Zwecks möglichster Variation der Bedingungen wurden diese in folgender Weise der Verminalwirkung ausgesetzt: Ein doppelseitig mit Gaze verschlossener Glaszylinder mit 3 Käfern wurde frei auf den Ofen, 15 Wanzen in gleichem Behälter ebenso auf einen Stuhl gelegt. Ein mit Leinwand verschlossenes Glas mit 15 Schwaben stand ungeschützt auf dem Tisch, während 12 Wanzen in einer Pappschachtel mit doppelter Gazefensterung daselbst unter einen Hut gestellt wurden. 5 Schwaben in einem Pulverglas mit Gazeverschluß waren in einer nicht ganz dicht schließenden Schublade untergebracht, 10 Wanzen im Gazebeutel in einer Sofanische, eine doppeltgefensterte Pappschachtel mit 15 Läusen in einer Rocktasche und 24 Läuse in einem Reagierglas mit ca. 2 cm dickem Wattestopfen. Ein Gazebeutel mit 9 Wanzen endlich, ein Leinenbeutel mit 12 Läusen und ein solcher mit zahlreichen Nissen wurden tief in die Spalten der Matratze eingeführt. Schließlich stellten wir eine graue Maus, einen Hyazinthen- und einen Schneeglöckchentopf und je 2 Platten mit Milzbrandfäden und Staphylococcus aureus in das Zimmer. Nachdem nun die in den Apparat gefüllten 1,4 kg Verminal — pro 10 cbm $^1/_4$ kg — angezündet waren, wurde der Raum wegen der sich sofort entwickelnden, dichten, die Atmungsorgane heftig reizenden Dämpfe schnell verlassen und die Tür von außen abgedichtet.

Während der 5stündigen Wirkungszeit des Verminals war ein Aufenthalt in den Nebenräumen wohl möglich, doch nicht angenehm. Bei der Wiederöffnung des Zimmers gelang es, das Fenster ohne Anwendung von Sauerstoffapparaten zu erreichen und zu öffnen und nach einer halben Stunde Durchlüftung war das Zimmer wieder betretbar. Es

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

fand sich nun, daß alles Ungeziefer sowie die Maus tot und die Pflanzen verwelkt waren. Glas und Politur zeigten einen feinen, klebrigen Ueberzug, der sich von ersterem leicht entfernen ließ, während auf der unbedeckten Politurstelle des Tisches eine ganz leichte Mattierung gegenüber den bedeckten Stellen zurückblieb. Die Metallteile waren sämtlich stumpf geworden, nach dem Putzen aber frei von Beschädigung. Bücher, farbige Bilder, Photographien und Tapeten zeigten bis auf eine Farbänderung eines gelben Bucheinbandes und eines gelben Zettels nach lila keine Veränderungen. Auch die im Zimmer aufgehängten Kleidungsstücke blieben unversehrt. Hingegen war ein längerer Aufenthalt im Raum bei geschlossenem Fenster unmöglich, so daß er 2 Nächte nicht zum Schlafen zu benutzen war.

Auch am nächsten und den folgenden Tagen lebte keines der Tiere wieder auf, während die Kontrolltiere sämtlich rege Lebensäußerungen darboten. Milzbrandbazillen und Staphylokokken waren nicht abgetötet. Von den im Gazebeutel am eigenen Körper bebrüteten Nissen entwickelten sich keine Läuse, während in einem anderen entsprechenden Versuche, wobei mich Herr Dr. Jane in dankenswerter Weise unterstützte, von den zur Kontrolle bebrüteten, gleichalten, nicht vorbehandelten Nissen eine Anzahl ausschlüpften.

Es zeigte sich also, daß das Verminal bei einfachen und leicht erschwerten Bedingungen Läuse, Wanzen, Schwaben sowie Mäuse innerhalb 5 Std. zu töten vermag, daß es dabei eine leichte Tiefenwirkung entwickelt — siehe Parasiten in Hut, Schublade und Rocktasche —, daß es aber gegen Bakterien wirkungslos ist.

II.

Ein zweiter Versuch wurde in einer 70 cbm großen Waschküche ausgeführt. Der Rauminhalt war hier also wesentlich größer, die Abdichtungsmöglichkeiten durch ein altes Fenster und die Feuerungsanlage erschwert. Außer Läusen, Wanzen und Schwaben wurden nunmehr auch Flöhe und Mücken dem Verminal ausgesetzt, und zwar unter erschwerten Bedingungen in folgender Anordnung: unbedeckt standen in einem Gazebehälter am Fenster 6 Mücken, auf dem Herd 2 offene Schalen mit Kleiderlausnissen. ferner in einer Pulvertüte aus dünnem Papier 3 Flöhe, in 2 solchen aus Kanzleipapier 1 Floh und 4 Wanzen. Leicht verdeckt wurden in einer alten Schürze am Boden ein Glaszylinder mit doppeltem Gazeboden und darin 11 Mücken, eine kleine ebensolche Pappschachtel mit 2 Flöhen, ein Gazebeutel mit 12 Läusen und ein Leinenbeutel mit 12 Wanzen. Eine einseitig mit Gaze verschlossene Streichholzschachtel mit einem Käfer kam in eine Kiste mit lose darauf liegendem Pappdeckel, ein Gazeglaszylinder mit 2 Käfern in einen Ballen Holzwolle etwa 15 cm unter die Oberfläche und eine 2. Streichholzschachtel wie oben mit 1 Käfer wurde fest mit einem Lappen umwickelt an der Wand aufgehängt. Schließlich wurde wieder eine graue Maus hineingesetzt und von Bakterien diesmal Staphylococcus albus und Bact. coli an Fäden angetrocknet.

Durch das Fenster ließ sich die Entwicklung dichter Dämpfe aus dem mit bläulicher Flamme brennenden Verminal verfolgen, die bald eine weitere Beobachtung unmöglich machten. Nach 5-stündiger Einwirkung fand sich folgendes: alle frei im Raume untergebrachten Tiere waren wie beim ersten Versuch tot. Es lebten dagegen die beiden

Käfer in der Holzwolle, deren einer allerdings am nächsten Tage starb, der in der Kiste befindliche und der mit dem Lappen umwickelte Käfer. Ferner von den Tieren in der Schürze am Boden die 2 Flöhe, 5 der 12 Wanzen — nach 8 Tagen nur noch 2, die auch weiterhin am Leben blieben — und eine der 12 Läuse. Dagegen waren die 11 Mücken sämtlich tot. Die Nisse entwickelten sich trotz Bebrütung wiederum nicht, die Bakterien aber wiesen ein ungestörtes Wachstum auf.

Das Verminal schien also die erschwerten Bedingungen nicht überwinden zu können. Vor allem erweckte es den Anschein, als ob es in den tiefer, speziell am Boden gelegenen Bezirken nicht seine volle Wirkung zu entfalten vermag.

III.

Der 3. Versuch wurde also dementsprechend modifiziert. Frei am Boden befanden sich 7 Schwaben im Gazeglaszylinder und 5 Schwaben in Gazestreichholzschachtel. In $^3/_4$ m Höhe 5 Schwaben in einem Glas mit Leinwandverschluß, 3 Schwaben im Gazeglaszylinder unter einer Schürze, 4 Mücken in gleichem Behälter frei im Raum, 2 Flöhe in dünner Papiertüte in Holzritze steckend, 1 Wanze in Tüte freiliegend und 3 Flöhe in doppelt gefensterter, mit Gaze überzogenen Deckgläschenschachtel — übrigens ein leicht und schnell mit wenig Material herzustellender Käfig für Versuche mit kleinen Parasiten, der, gegen das Licht gehalten, genügend Einblick in das Innere gewährt, wenngleich natürlich dort, wo es sich um genaue Verfolgung der am Inhalt sich abspielenden Vorgänge handelt, ein weiter Glaszylinder, fast so breit wie lang, beiderseits mit Gaze verschlossen, vorzuziehen ist. Beide Arten von Käfigen gewähren das Durchströmen von Gasen mit Sicherheit —. In $1^1/_2$ m Höhe wurden dann noch 4 Flöhe in oben beschriebener Schachtel am Fenster und 5 Mücken im Glasrohr in einer Kiste mit Pappdeckelverschluß angebracht. Endlich in $2^1/_2$ m Höhe 7 Mücken und 4 Schwaben in je einer gazegefensterten Pappschachtel.

Außer in verschiedener Höhe war ein Teil der Tiere also wiederum frei, ein anderer geschützt im Raume untergebracht. Es zeigte sich nun, daß nach Einwirkung des Verminals alles Ungeziefer bis auf einige der Schwaben am Boden und in $^3/_4$ m Höhe regungslos dalag und auch später nicht wieder auflebte. Es lebten 1 von den 7 und 3 von den 5 Schwaben am Boden, ferner 1 von den 5 und 1 von den 3 Schwaben in $^3/_4$ m Höhe; nach 4 Tagen waren davon auch die erste und letzte tot, die übrigen 4 blieben am Leben.

So konnte aus diesem Versuch wohl auf eine minder gute Wirkung des Verminals in den tiefergelegenen Teilen des Raumes geschlossen werden, wenngleich diese merkwürdigerweise nur an Schwaben zur Beobachtung kam. Es galt also in einem letzten Versuch noch einmal die Verminalwirkung in niedrigen Höhen auf verschiedenes Ungeziefer festzustellen.

IV.

In den üblichen Käfigen wurden 5 Kakerlaken am Boden, 3 in 10 cm, 6 in 25 cm und 4 in 75 cm Höhe aufgestellt. Desgleichen 9 Mücken am Boden, 3 in 10 cm, 8 in 1 m — letztere dicht am Fenster — und 3 Flöhe am Boden, 4 in 75 cm Höhe.

Nach 9 Min. lagen bereits die Mücken am Fenster betäubt am

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Boden der Schachtel, nach 5 Std. war alles Ungeziefer tot, bis auf einen Käfer, aus 10 cm Höhe, der noch 9 Tage Beine und Fühler bewegte, ohne herumkriechen zu können, und dann auch einging. Zu allen Versuchen wurde natürlich frisches, lebenskräftiges Material genommen.

Zusammenfassend kann also gesagt werden, daß in dem Verminal ein einfach zu handhabendes Mittel zur Bekämpfung des Ungeziefers vorliegt, das seine Wirksamkeit überall im Raume ohne nennenswerte Beschädigungen der Einrichtungsgegenstände entfaltet.

Nachdruck verboten.

Mitteilung über einen eigenartigen bakteriologischen Befund bei einer bombierten Fleischkonserve.

[Aus dem Laboratorium des Schweizerischen Gesundheitsamtes (Vorstand: F. Schaffer).]

Von **Hans Gellinger.**

Das Ueberraschende einer Beobachtung, die wir im Verlaufe der bakteriologischen Untersuchung einer bombierten Fleischkonserve zu machen Gelegenheit hatten, dürfte die folgende Mitteilung rechtfertigen, ungeachtet der durch unerwartetes Eingehen des betreffenden Mikroorganismus bedingten Unvollständigkeit des erhobenen Befundes.

Es handelt sich um ein streng anaërobes Stäbchen, das bereits in den gefärbten Ausstrichpräparaten des ranzig riechenden Konserveninhaltes in ziemlich großer Zahl aufzufinden war. Seine Größendimensionen betragen im mit Konserveninhalt angefertigten, gefärbten Präparat 0,7—0,8 μ Breite und etwa 2,0 μ Länge; im hängenden Tropfen mit Material aus einer 2-tägigen Agarschüttelkultur sind die betreffenden Maße $1 \times 3—17\ \mu$. Die Zellen besitzen abgerundete Pole, einzelne Individuen weisen schwache Krümmung auf. Beweglichkeit und Sporenbildung konnten nie festgestellt werden; doch beweist das Angehen von 15 Min. bei 80° C pasteurisierten Agarschüttelkulturen aus Originalmaterial das Vorhandensein von Sporen. Verhalten bei Färbung nach Gram (etwas schwach) positiv. Alle vom Konserveninhalt angelegten aëroben Kulturen sind ohne Wachstum geblieben. Hingegen entwickelte sich der Organismus gut in Agarschüttelkulturen. Impf- und Fütterungsversuche an Meerschweinchen und Mäusen wurden nur mit dem Konserveninhalt durchgeführt; über Tierversuche mit Reinkulturen verfügen wir nicht. Es ist zum mindesten fraglich, ob es sich um einen tierpathogenen Organismus handelt, da jene Tiere allesamt gesund geblieben sind.

Das Verhalten der Kulturen in Milch, erstarrtem Pferdeserum, Hirnbrei, Gelatine und Agar gibt Anhaltspunkte für seine Stellung im System: Unmittelbar vor der Impfung ausgekochte (und wieder gut gekühlte), mit Anaërobenverschluß versehene und 10 Tage bei 37° gestandene Milch ist ohne sichtbare Veränderung geblieben. Geruch ohne Besonderheiten, Reaktion sehr schwach sauer. In Pferdeserum (Stichkultur) tritt nach 10-tägiger Bebrütung bei 37° keine Verflüssigung ein;

es zeigt sich kein auffallender Geruch, der Serumzylinder ist von einer Anzahl Gasblasen durchsetzt. Hirnbrei (Rinderhirn, schwach alkalisch) weist nach 2—3 Tagen bei der angegebenen Temperatur Gärung auf. Schwärzung tritt auch bei 10 Tage langem Aufenthalt bei 37° nicht ein. Zu dieser Zeit ist der Geruch etwas brenzlich, die Reaktion schwach sauer. Gelatineschüttelkulturen ergeben nach 7-tägigem Aufenthalt bei 22° kugelige, kompakte Kolonien von grauweißer Farbe unter einer obersten wachstumsfreien Zone von etwa 2 cm Höhe. Keine Gasentwicklung, keine Peptonisierung. Nach 18 Tagen hat sich das Bild insofern verändert, als jetzt das mittlere Drittel des Gelatinezylinders von einem feinen, dichtflockigen Bazillenfadengewirr eingenommen wird. Hier handelt es sich wohl bereits um Gelatineerweichung. Das unterste Drittel ist noch durch gut abgegrenzte, kompakte, kugelige Kolonien charakterisiert: zwischen mittlerem und unterem Drittel befinden sich einige Gasblasen. Noch später ist dann im Bereich der Wachstumszone völlige Gelatineverflüssigung eingetreten. Die Agarschüttelkulturen ergaben nach 2 Tagen (37°) streng anaërobes Wachstum mit $1\frac{1}{2}$ cm hoher, oberster, kolonienfreier Schicht. Die Kolonien haben den lockeren Typus mit zerschlissenen Rändern; sie sind unregelmäßig, flockig. Etwas Gasbildung, schwacher Buttersäuregeruch.

Aus dem Verhalten in erstarrtem Pferdeserum und in Hirnbrei ergibt sich zweifellos, daß von dem Verliegen eines Fäulnisbazillus keine Rede sein kann. Wäre das nämlich der Fall, so müßten wir Verflüssigung des ersteren, Schwärzung des letzteren unter Entwicklung putriden Gestankes erwarten. Außerdem hätte der Nachweis von Sporen unschwer gelingen müssen. In Milch ist der Organismus nicht zur Entwicklung gekommen, wobei es dahingestellt bleiben muß, ob wir darin eine Zufälligkeit zu erblicken haben, oder ob wir diesem Umstand einigen Wert bei einem Klassifizierungsversuch beilegen dürfen. Es könnten auch, je nach dem Fall, beide Anschauungsweisen zu Recht bestehen. Es sei hier darauf hingewiesen, daß wir gleichzeitig mit unserem Stäbchen Kulturen anderer Anaërobier in demselben Milchsubstrat anfertigten und dabei einerseits stürmische Gärung mit schwammiger Verklumpung des Kaseins, andererseits Peptonisierung ohne vorangegangene Gerinnung beobachten konnten. Im Nährsubstrat also dürften die Ursachen der fehlenden Weiterentwicklung nicht liegen. Trotzdem möchten wir diesem Umstand im vorliegenden Fall keinen weiteren diagnostischen Wert beilegen, da es sich um ein Stäbchen im labilen Gleichgewichtszustande, wie sich weiter unten ergeben wird, handelt, das vielleicht auch einem etwas gewaltsamen Milieuwechsel gegenüber, wie es das Einbringen in Milch aus gewöhnlichem Nähragar bedeutet, mit Einstellung der Zellteilung reagiert. — Der Buttersäuregeruch der Agarschüttelkulturen, verbunden mit dem erbrachten Nachweis, daß Eiweiß nicht angegriffen wird, weist uns darauf hin, daß wir es mit einem Buttersäurebazillus zu tun haben. Die Buttersäure der Agarkultur dürfte in diesem Falle nur vom Muskelzuckergehalt des Nährmediums hergerührt haben. Das Fehlen von Beweglichkeit und Sporenbildung und die Gelatineverflüssigung berechtigen ferner zu dem Schlusse, daß der von Grassberger und Schattenfroh sogenannte Granulobacillus saccharobutyricus immobilis liquefaciens (unbeweglicher Buttersäurebazillus) vorliegen muß.

Bei der Weiterverarbeitung der Agarschüttelkulturen ergab sich nun ein unerwarteter Befund. Zunächst wurden von einer Agarschüttelkultur, ausgehend von nicht pasteurisiertem Originalmaterial, je eine aërobe und anaërobe Bouillonkultur angelegt, die aber beide nach 4-tägigem Aufenthalt bei 37° keine Entwicklung erkennen ließen. Besseren Erfolg hatten wir mit 2 vom gleichen Ausgangsmaterial hergestellten Agarstichkulturen, die nach 2 Tagen (37°) gutes Wachstum längs dem ganzen Stich mit etwas seitlicher Proliferation ergaben. Außerdem hatte sich aber eine kleine Auflage gebildet. Gram-Präparate von letzterer ergaben gramnegative Stäbchen, $0{,}9 \times 2-5\ \mu$, abgerundete Pole. Wir glaubten es anfangs mit einer Verunreinigung zu tun zu haben und legten von dieser Auflage des weiteren 2 Agaroberflächenkulturen, sowie Gelatine- und Bierwürzegelatineplatten an. Doch ist weder auf jenen bei 37°, noch auf diesen bei 21° nach 9 Tagen Wachstum eingetreten.

War es damit unwahrscheinlich geworden, daß eine Verunreinigung vorlag, so wurde die Frage jetzt von Interesse, ob sich der Befund (ausgehend von einer 2. Agarschüttelkultur) wiederholen ließe. Wir wählten dazu eine der aus pasteurisiertem Originalmaterial angelegten Agarschüttelkulturen, von der wir 2 Agarstichkulturen herstellten. Während die eine derselben steril blieb, wies die andere schon nach 1 Tag (37°) kräftige Entwicklung längs dem Stich auf. Nur unmittelbar unter dem Agarniveau zeigte sich eine Verjüngung des Stiches. Eine Auflage hatte sich nicht ausgebildet.

Nach 2 Tagen (37°) hatte sich der Befund in folgender Weise verändert: Am Stich läßt sich jetzt Seitenwachstum feststellen in Form dreier, in Winkeln von 60° zueinander orientierten Längsleisten, deren freie Ränder bogig eingeschnitten sind und durch besonders dichtes Wachstum deutlich werden. Größte Breite des Stiches etwa 2 mm. Ungefähr 8 mm unter dem Niveau verschwinden nach kurzer Uebergangszone diese Längsleisten; dafür nimmt von dieser Stelle an der kahle Stich nach oben an Dicke und Dichte zu und hat unmittelbar unter dem Niveau ca. $^2/_3$ mm Durchmesser. Es hat sich jetzt ferner eine Auflage gebildet. Sie ist rundlich, von 5 mm Durchm., grauweißlich, etwas erhaben und saftig glänzend, mit zarter Randzone, die sich bei Lupenbetrachtung als gelappt erweist.

Wir glauben, zu dem Schluß berechtigt zu sein, daß hier ein Fall von Pseudoaërobiose vorliegt. Die Bakterienmassen der Auflage stammen wohl aus dem Stichkanal, aus dem sie durch andauernde Bakterienwucherung in demselben allmählich nach oben aus ihm herausgedrängt wurden. Dafür spricht auch die Konfiguration jener obersten Stichstelle, die sich einem Krater vergleichen ließe.

Ob innerhalb der Auflage noch weiteres Bakterienwachstum stattgefunden hat, ist fraglich; dafür spricht vielleicht der zarte Rand mit Lappenbildung, dagegen der Umstand, daß es nie gelungen ist, durch Abimpfung von der Auflage wieder Kulturen zu erhalten, weder aërob noch anaërob (von der Auflage der 2-tägigen Kultur wurden Agarschüttelkulturen, eine Agarstichkultur und je eine aërobe und anaërobe Bouillonkultur angelegt; sämtliche Kulturen wurden 6 Tage bei 37° gehalten; in keiner hat sich Wachstum eingestellt), ferner das Ergebnis der Gram-Färbung, indem die von der Auflage stammenden Stäbchen schlechter gramfärbbar waren als die normal gewachsenen.

Als besonders auffallend mußte es aber nun erscheinen, daß wir bei Gelegenheit der Durchmusterung dieser Oberflächenbelagmassen im hängenden Tropfen auf ein Gebilde von großer Regelmäßigkeit stießen.

über dessen Spirochäten- oder Spirillumnatur wir bloß im unklaren waren. Die Notizen darüber im Protokoll seien hier wiedergegeben:

Hängender Tropfen von der Auflage: Unbewegliche, sporenfreie Stäbchen (0,9—1,0 × 2—5—10—25 μ) in großer Ueberzahl. Ganz vereinzelt „Spirochäten“. Es sind dies korkzieherartig gekrümmte Gebilde von schlanker, langgestreckter Gestalt, in der Mitte am dicksten, symmetrisch gegen beide Enden allmählich sich verjüngend; diese sind scharf zugespitzt. Länge 43 μ, innere Weite eines Schraubenganges der Mitte 2 μ. Dicke des Zellleibes in der Mitte etwa $^3/_4$ μ.

Einen Tag später wird wieder eine solche Form gefunden; außerdem eine bedeutend dickere: Länge 30 μ, 16 Doppelwindungen, Dicke des Zellleibes in der Mitte 3 μ. Im Innern des Zellleibes, den Windungen parallel, läßt sich eine durch verschiedene Lichtbrechung bedingte feine Streifung erkennen. Wir glaubten damals, diese Erscheinung beginnender Längsteilung zuschreiben zu müssen.

Aus dem Material des Stichkanals dieser soeben beschriebenen, jetzt 3 Tage alten Agarkultur wurde eine weitere Agarstichkultur angelegt, die nach 24 Std. (37°) bereits kräftiges Wachstum längs dem ganzen Stich und schon etwas Oberflächenentwicklung aufweist. Die Auflage ergibt wieder neben unbeweglichen, sporenlosen Stäbchen nach längerem Durchmustern des hängenden Tropfens eine 30 μ lange „Spirochäte“ vom angegebenen Aussehen.

Von dieser Kultur wird nach 13 Tagen in ein frisches Agarröhrchen abgestochen. Es tritt jetzt eine Habitusänderung der Kultur ein; einerseits entwickelt sich nämlich kein Oberflächenwachstum mehr, der Stich endet oben 13 mm unter dem Agarniveau, andererseits kommt es zur Ausbildung langer, seitlicher Ausläufer mit wolkig-flockigen Sekundärkolonien. „Spirochäten“ ließen sich nicht mehr nachweisen (Beobachtung an der 5-tägigen Kultur). Daß dieser Wechsel mit dem Umstande zusammenhängt, daß diese Kultur nur bei 32° gehalten wurde, ist unwahrscheinlich, da 2 weitere, von derselben angefertigte, wieder bei 37° wachsen gelassene Agarkulturen ganz dasselbe Aussehen wie ihre Mutterkultur beibehielten: Aufhören des Stichwachstums 1 cm unter dem Agarniveau, kräftiger Stich mit Ausbildung langer Seitenausläufer, besonders in der Mittelpartie, die stellenweise die Glaswand erreichen und flockige Sekundärkolonien ausbilden. Der Einwand, daß die Modifikation des Kulturbildes auf einer Aenderung in der Beschaffenheit des Nährsubstrates, bedingt besonders durch den bei längerer Aufbewahrung abgefüllter Agarröhrchen eintretenden Wasserverlust, beruhen könnte, ist insofern nicht stichhaltig, als jedenfalls der Wassergehalt und die kolloide Beschaffenheit des Agargels nur geringfügigen Schwankungen unterworfen gewesen sein konnten. Wir ergänzen nämlich Agarröhrchen, die ein Sinken des Niveaus um ca. $^1/_2$ cm infolge Wasserverdunstung aufweisen, mit sterilem, destilliertem Wasser; dazu kommt, daß ja vor jeder Impfung der Agar frisch geschmolzen und wieder erstarren gelassen worden war (20—30 Min. lange Auskochung zwecks möglichst weitgehender Sauerstoffentfernung), so daß wohl immer so ziemlich die gleiche kolloidchemische Struktur der Agargallerte vorgelegen haben mußte. Dichterwerdung des Agars infolge Wasserverdunstung — frische Herstellung des Gelzustandes vorausgesetzt — einerseits, Entstehen langer Seitenausläufer vom Stiche aus andererseits sind übrigens wohl kaum in kausalen Zusammenhang zu bringen, indem umgekehrt eher zu erwarten wäre, daß ersterer Vorgang diesem Vortreiben von Seitenästen hinderlich wäre. (Wohl besser in Einklang zu bringen wäre das Ausbleiben der Entwicklung einer Auflage mit dem Fehlen der Kontraktionswasserschicht an der Oberfläche, wenn nicht eben diese Verhältnisse im Verlaufe unserer Fortzüchtung ungefähr die gleichen geblieben wären.)

Es wurde von nun an alle 14 Tage auf frisch ausgekochten Agar in hoher Schicht abgestochen, wobei fortgesetzt eine hochgradige Sauerstoffempfindlichkeit der Weiterkultivierung gewisse Schwierigkeiten bereitete, die sich auch darin dokumentierte, daß der Abstand vom Agarniveau bis zum oberen Ende des bewachsenen Stiches stetig zunahm. 48 Tage seit Beginn dieser Konservenuntersuchung war die Weiterimpfung zum letztenmal von Erfolg.

Nach dem Ausbleiben des Oberflächenwachstums ist es uns nicht mehr gelungen, „Spirochäten“ zu finden. Können wir also in diesen ein Kriterium dafür erblicken, daß die Auflage autochthonen Charakter hat? Bestehen Beziehungen zwischen ihrem Auftreten und der Pseudoaërobiose? Handelt es sich überhaupt bei Stäbchen und „Spirochäten“ um 2 verschiedene Kleinwesen oder um Formelemente ein und desselben Mikroorganismus? Bevor wir auf diese Fragen eintreten konnten, mußten wir über die Natur dieser korkzieherförmigen Gebilde ins reine kommen.

Anfänglich hielten wir dieselben für Spirillen und machten Züchtungsversuche auf Kutschers (1) Spirillennährmedien, aber ohne Erfolg. Auch Färbungsversuche mit starker (Karbol-)Fuchsinlösung und nach Giemsa schlugen fehl. Geißelfärbungen wurden nicht ausgeführt, weil zur Zeit, da wir die Gebilde in Händen hatten, uns, voreingenommen wie wir durch ihre merkwürdig selbständige Erscheinung waren, die Erkenntnis ihres wahren Charakters nicht kommen wollte. Erst nachträglich und durch Zufall wurden wir durch die Literatur auf die richtige Fährte geführt.

Schon 1890 beschrieb Loeffler (2) bei nach seiner Geißeldarstellungsmethode gefärbten Präparaten von Rauschbrandbazillen solche Gebilde, die er als abgerissene und zu Zöpfen verschlungene Geißeln bewertete. Er hielt sie für die Rauschbrandbazillen als charakteristisch; doch bald nachher fand Sakharof (3) ebensolche Geißelzöpfe in der Kultur eines aus einem Cholerastuhl stammenden Bazillus. Diese Gebilde waren, wie jene Loefflers, ebenso gut im ungefärbten Zustande sichtbar wie in Präparaten mit Geißelfärbung. Analoge Befunde teilten 1894 Novy (4) von einem zur Gruppe des malignen Oedems gehörenden Bazillus, 1897 Kanthack und Connell (5) in bezug auf 4—14 Tage alte (anaërobe) Agarstrichkulturen von Tetanusbazillen, 1902 Malvoz (6) von einem Bacterium coli aus Typhusstuhl mit. Besonders die Mikrophotogramme letzterer Arbeit geben die Befunde in vollkommener Art wieder. 1904 beobachtete Grassberger (7) Geißelzöpfe wieder bei Rauschbrandbazillen, und zwar sowohl in einem mit wässeriger Gentianaviolettlösung gefärbten Präparat, wobei die Gebilde als solche in ungefärbfem Zustande in die Erscheinung traten, als auch sehr sinnfällig in nach der Methode v. Ermenghems behandelten Ausstrichen. 1919 beschrieben Koga und Otsubo (8) ähnliche Formen, die ihnen bei Reinzüchtungsversuchen von Smegmaspirochäten begegneten. Die Gebilde waren im Dunkelfeld oder im Tuschepräparat sichtbar. Sie sollen eine große Aehnlichkeit mit Involutionsformen von Treponema macrodentium Noguchi haben. Es gelang den Autoren, trotz aller Bemühungen, nicht, von ihnen Reinkolonien zu erhalten. Sie traten immer in Begleitung von Bac. subtilis auf. Es ließen sich 2 Hauptformen unterscheiden: Große Pseudospirochäten mit Schraubengängen 2—5 × 1—1,5 μ und kleine Pseudospirochäten mit Schraubengängen von 1—1,5 × 1—1,2 μ. Die Zahl der Schraubengänge wechselt von 2—100 bei den großen und mehreren 100 bei den kleinen Formen. Die Schraubengänge sind regelmäßig. Im allgemeinen zeigen sich 15—30 μ lange Gebilde mit 6 bis 15 Schraubengängen. Häufig solle man Erscheinungen von Längsteilung bemerken, doch auch Querteilung fehle nicht. Die Pseudospirochäten sind unbeweglich und zeigen sehr wenig Affinität für Farbstoffe. Hingegen sollen sie sich sehr gut mit den Geißelfärbemethoden zur Darstellung bringen lassen. Als zu ihrer Gewinnung am besten geeignete Kulturmedien geben die Autoren Aszitesplasma, Aszitesagar nach Noguchi und Pferdeserum nach Shmamine an. Zahlreiche Mikroben sollen imstande sein, solche Gebilde zu erzeugen.

Aus dem refraktären Verhalten gegenüber gewöhnlichen Färbeverfahren einerseits, der guten Darstellungsmöglichkeit mit Geißelfärbemethoden andererseits erhellt die Geißelnatur dieser Gebilde. Daß es sich nicht um selbständige Zellen handeln kann, ergibt sich auch daraus, daß an ihnen nie Lebensäußerungen, wie Bewegung oder Wachstum zu Kolonien, beobachtet werden konnten; nur die (auch von uns beobachteten) „Längs"- und die „Querteilungserscheinungen" ließen auf Wachstum schließen, vorausgesetzt eben, daß es sich dabei wirklich um Zellteilungsphänomene handelt.

Ueber ihre Entstehung bestehen 2 voneinander abweichende Ansichten. Loeffler, Sakharof, Migula (9) und Malvoz halten die Formen für Konvolute von einzelnen Geißeln, dadurch zustande gekommen, daß zuerst einzelne Geißeln benachbarter Bazillen sich verwickelten, wobei es sich leicht ereignete, daß bei der Fortsetzung ihrer Bewegungen ein Teil der verfangenen Geißeln von ihren Bazillenleibern abrissen. Durch Wiederholung dieses Vorganges entständen nach und nach gewaltige Geißelzöpfe, die sich schließlich von allen dazu gehörigen Bazillen lostrennten und dann als selbständige Gebilde imponierten. Demgegenüber erhebt Novy den Einwand, daß es bei dieser Anschauung nicht zu verstehen sei, warum „die Randlinien dieser großen Geißeln fast unveränderlich scharf und deutlich abgeschnitten sind. Nie fand es sich, daß eine Spirale mit mehr als einer Zelle zusammenhing, und dann ist sie immer mit dem dünnen Ende verbunden. Im Falle ihrer Zusammensetzung aus einem Haufen von Geißeln dürften wir gelegentlich erwarten, ausgefranste Ränder an den Spiralen und Bazillen mit verschiedenen Teilen der Spirale verbunden zu finden: allein das ist nie der Fall". Novy neigt eher dazu, die Gebilde als Involutionsformen von Geißeln zu bewerten. Auch Koga und Otsubo scheinen sich letzterer Ansicht anzuschließen, soweit das aus dem uns allein zugänglichen Referat hervorgeht.

Nachdem die Geißelnatur der Spirochätenformen einmal sichergestellt oder zum mindesten äußerst wahrscheinlich geworden war, mußte es zunächst paradox erscheinen, daß diese Gebilde ausschließlich in der Auflage, nicht aber im Stichkanal anzutreffen waren, und man konnte versucht sein, sie als Kriterium für den autochthonen Charakter der Auflage zu bewerten. Doch bewog uns folgende Ueberlegung, darauf kein großes Gewicht zu legen: Die Entstehung von Geißelzöpfen dürfte, wenigstens soweit es sich um Agarkulturen handelt, durch den flüssigen Zustand des Mediums ganz wesentlich gefördert werden, wie auch aus entsprechenden Angaben der Literatur hervorgeht. So gibt z. B. Novy an, daß er mit Agar zu besonders guten Ergebnissen kam, wobei wieder im Kondenswasser das beste Material zu finden gewesen sei. (Sonderbarerweise sollen, im Gegensatz dazu, Bouillonkulturen für die Bildung der Spiralen nach diesem Autor ungeeignet sein.) Diese Bedingung ist nun offenbar bei den Kulturen mit frisch geschmolzenem und erstarren gelassenem Agar in viel vollständigerer Weise am Agarniveau erfüllt als im Stichkanal, indem sich auf ersterem einerseits eine dünne Schicht von sogenanntem Kondenswasser ansammelt, andererseits in den auf die Impfung folgenden Stunden die Funktion der Geißeln nicht durch die Gegenwart einer größeren Bakterienmenge behindert wird. Hinsichtlich der Frage nach dem kausalen Zusammenhang von Pseudoaërobiose und Ausbildung der Geißelzöpfe (oder Riesengeißeln?) kann vermutet werden, daß ein solcher insofern besteht, als unter der schädigenden Einwirkung des atmosphärischen Sauerstoffes die Geißeln alteriert werden. Dabei käme es entweder zu einer abnormen Brüchigkeit derselben, was der Entstehung von Zöpfen Vorschub leistete, oder zu einem degenerativen,

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

zur Quellung führenden Zustand, in dem sie als Riesengeißeln imponierten. Doch noch wertvoller erscheint uns das Eingeständnis, daß wir über den wahren Charakter des ganzen Befundes eigentlich nichts wissen. Schwierigkeiten bereitet dem Verständnis besonders auch der Umstand, daß nur mächtige Formen in ganz spärlicher Zahl, hingegen keine Uebergänge zu einfachen Geißeln gefunden wurden. Möglicherweise hätte hier eine Geißelfärbung besseren Aufschluß gegeben.

Ungleich wichtiger ist nun aber die objektiv feststellbare Tatsache des Vorliegens von Geißeln überhaupt. Das Vorhandensein von Geißelzöpfen ist ein untrügliches Zeichen, wenn nicht stattgehabter Lokomotion, so doch der Ausbildung von Bewegungsorganen. Also mußte der Organismus zum wenigsten früher einmal beweglich gewesen sein. In ganz analoger Weise ist noch eine andere Feststellung zu bewerten: Im Anwachsen von mit pasteurisiertem Originalmaterial beimpften Agarkulturen dokumentiert sich unzweifelhaft das Vorhandensein von Sporen, wenn es uns auch nie gelungen ist, solche mikroskopisch bei Kulturen festzustellen. Sie mußten also jedenfalls im Konserveninhalt im lebenden Zustande vorhanden gewesen sein.

Nun ist seit den bahnbrechenden Untersuchungen von Grassberger und Schattenfroh die außerordentliche Labilität der zur Gruppe der dimorphen Buttersäurebazillen gehörenden Anaërobier mit ihren pathogenen und harmloseren Vertretern bekannt. Diese von den Autoren als Denaturierbarkeit bezeichnete Labilität wird in erster Linie durch den Verlust von Beweglichkeit und Versporungsvermögen dieser Organismen gekennzeichnet. Das legt uns die Auffassung nahe, daß unser Stäbchen vor kurzem noch den Charakter der beweglichen Form des dimorphen Buttersäurebazillus gehabt hatte, der aber schon bei unseren Züchtungsversuchen auf künstlichen Nährmedien durch Denaturierung verloren gegangen ist.

Es ist in diesem Zusammenhang noch darauf hinzuweisen, daß der Konserveninhalt sehr wahrscheinlich ursprünglich nicht ausschließlich von dem Buttersäurebazillus besiedelt war, indem die direkten Ausstrichpräparate, allerdings mehr vereinzelt, noch andere Formelemente von Mikroorganismen zu erkennen gaben, so z. B. eine grampositive Diplokokkenform mit distal zugespitzten Enden, eine andere mit kreisrunden und ziemlich großen Einzelzellen. Dieser Umstand ist vielleicht geeignet, die Verhältnisse der Sporogenität etwas zu beleuchten. Die genannten Autoren weisen unter anderem (Arch. f. Hyg. Bd. 42. S. 243) darauf hin, daß unter Umständen die Gegenwart anderer aërober oder anaërober Bakterienarten die Neigung zur Bildung von Sporen auffällig begünstigt. Sie geben dann weiterhin an, „daß sich diese Beeinflussung des Versporungsvorganges durch Symbiose vor allem darin bemerkbar macht, daß bei der Reinzüchtung aus Bakteriengemischen, insbesondere dann, wenn aus flüssigen Nährböden Zuckeragarplatten gegossen werden, die auf den Platten zur Entwicklung kommenden Kolonien sehr häufig sporenarm sind, ja daß die Generationen, welche von solchen sporenarmen Kolonien weiterhin unter verschiedensten Verhältnissen angelegt werden (auf flüssigen und festen Nährböden), oft geringe Neigung zur Versporung beibehalten“. Auch den folgenden Befund könnte man versucht sein, im gleichen Sinne zu verstehen: Aus Marktmilch konnten die Autoren den dimorphen Buttersäurebazillus, und zwar ausschließlich in seiner denaturierten Form, kulturell in etwa 78 Proz. bei etwa 80 Fällen gewinnen, indem sie dieselbe geraume Zeit ($^1/_2$ Std.) im strömenden

Dampfe erhitzten und dann der Brutwärme aussetzten. [In etwa 2 Proz. wurde der bewegliche, leicht sporulierende Buttersäurebazillus erhalten. (Arch. f. Hyg. Bd. 37. S. 67.)] Sicherlich mußte in jenen 78 Proz. auch ein mit Sporen ausgerüsteter Mikroorganismus vorgelegen haben, da die intensive Erhitzung so gut überstanden wurde. Grassberger gibt uns eine Erklärung für diese merkwürdige Tatsache (Arch. f. Hyg. Bd. 48, S. 61): „Der Grund liegt darin, daß unter der großen Zahl der aus den Sporen ausschlüpfenden Stäbchen diejenigen, bei welchen die Neigung zur Versporung am geringsten ist, sich am raschesten vermehren und in kurzer Zeit alle anderen Rassen verdrängt haben. Mit der reichlichen Vermehrung geht aber Versporungsfähigkeit und Beweglichkeit rasch erblich in Verlust". Durch das Erhitzen wurde nun die Milch dem Zustande der Reinkultur beträchtlich genähert. Dabei ließ sich die Frage aufwerfen, ob der Untergang aller nicht sporenbildenden (verunreinigenden) Mikroorganismen, die als Symbionten fungieren könnten, die Vorbedingung abgebe für diesen Vorsprung der schlecht sporulierenden Rassen des dimorphen Buttersäurebazillus gegenüber den gut sporulierenden.

Wir können mit unserer Schlußfolgerung noch einen Schritt weiter gehen, indem ja unsere Befunde der Pasteurisierbarkeit und der Geißelzöpfe darauf hindeuten, daß der Prozeß der Denaturierung nicht weit zurückliegen kann. Geißeln mußten sogar noch in den künstlichen Nährmedien zur Ausbildung gekommen sein, obschon trotz wiederholter Kontrolle nie Lokomotion festgestellt werden konnte (was auf mangelhaften Gebrauch dieser Bewegungsorgane und baldiges Abwerfen derselben hindeutet).

Unser Organismus befindet sich also in einem neuen und möglicherweise ihm noch ungewohnten Zustand. Ein Argument für die Richtigkeit dieser Annahme liegt einmal in der geschilderten Aenderung im Habitusbild der Agarstichkultur, die zum Teil auch als zunehmende Empfindlichkeit gegenüber atmosphärischem Sauerstoff gedeutet werden kann. Als Ganzes wird sie wohl richtig als protrahierte Absterbeerscheinung bewertet. (Andere strenge Anaërobier, die ungefähr zur gleichen Zeit isoliert worden waren und in genau gleicher Weise auf künstlichem Milieu gehalten werden, leben heute noch bei freudigem Wachstum.) In dieser Beziehung ist noch eine Angabe von Grassberger von Interesse, der darauf hinweist, daß „in Kolonien, welche dem knolligen Typus entsprechen" — gemäß unserer Agarstichkultur ohne Seitenäste — „die Menge der Granulose führenden und insbesondere der Sporen tragenden Stäbchen häufig eine auffallend große ist, während bei Vegetationen mit diffuser Infiltration fast regelmäßig Clostridien und Sporen in den Hintergrund treten" (Arch. f. Hyg. Bd. 42. S. 224). Wir dürfen also vielleicht die Bildung von Seitenausläufern als Symptom für das Abnehmen des Sporulationsvermögens ansehen.

Dann aber ist besonders die Tatsache des Absterbens als solche, trotz kurzfristiger und sorgfältiger Weiterzüchtung, ein deutlicher Hinweis darauf, daß es dem Organismus offenbar nicht gelungen ist, sich seinem neuen Zustande auf die Dauer anzupassen, beziehungsweise, daß er in seiner ganzen Organisation noch nicht hinreichend gefestigt war, um die bei der künstlichen Züchtung gebotenen Verhältnisse dauernd zu ertragen.

Zusammenfassung: Aus dem Inhalt einer verdorbenen Fleischkonserve wurde ein unbeweglicher, obligat anaërober Bazillus isoliert, der als Buttersäurebazillus anzusprechen ist. Er legte eine Zeitlang ein scheinbar aërobes Verhalten an den Tag. Während dieser Episode wurden unter den Bazillen der oberflächlichen Auflagerung vereinzelte unbewegliche, spirochätenförmige Gebilde von beträchtlichen Dimensionen gefunden, wie sie in der Literatur als Geißelzöpfe beschrieben sind. Während der Organismus auch aus pasteurisiertem Konserveninhalt unschwer zu gewinnen war, ließen sich Sporen doch nie mikroskopisch nachweisen. Es dürfte also die denaturierte (unbewegliche, asporogene) Form des dimorphen Buttersäurebazillus im Sinne von Grassberger und Schattenfroh vorliegen, die sich vor kurzem aus der beweglichen, sporulierenden entwickelt hat. Man gewinnt den Eindruck, daß der neue Zustand noch nicht konsolidiert ist, was in der Aenderung des Habitusbildes der Agarstichkultur und im baldigen Absterben des Organismus seinen Ausdruck findet.

Es sei mir gestattet, Herrn Prof. Dr. Rob. Burri für die willkommenen Anregungen in der Interpretation der dargelegten Befunde, für die er sich in entgegenkommendster Art interessierte, auch an dieser Stelle meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

Meinem Kollegen, Herrn Dr. Karl Schweizer, verdanke ich den Hinweis auf die Arbeit von Koga und Otsubo, die mir zu weiterem Literaturstudium und damit zur Aufklärung des „Spirochäten“befundes den Anstoß gab.

Literatur.

1) Kutscher, Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. 18. S. 614. — 2) Loeffler, Centralblatt f. Bakt. Orig. Bd. 7. No. 20. — 3) Sakharof, Ann. de l'Instit. Pasteur. 1893. — 4) Novy, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 17. 1894. — 5) Kanthack u. Conneil, Transact. pathol. Soc. of London. Vol. 48. p. 271; Journ. of Pathol. Vol. 4. p. 452; zit. nach Baumgartens Jahresber. 1897. — 6) Malvoz, Ann. de l'Instit. Pasteur. 1902. — 7) Grassberger u. Schattenfroh, Arch. f. Hyg. Bd. 48. S. 18; siehe auch l. c. Bde. 37, 42 u. 60. — 8) Koga u. Otsubo, Journ. of infect. dis. Vol. 24. 1919; zit. nach Bull. de l'Instit. Pasteur. T. 17. 1919. — 9) Migula, System der Bakterien. Bd. 1. 1897; zit. nach Malvoz, l. c.

Inhalt.

Baatz, Zur Frage der Auflösung von Tuberkelbazillen durch spezifische Immunstoffe, S. 81.
Christiansen, M., Der Walfischseptikämiebazillus und sein Verhältnis zur Oedembazillengruppe, S. 127.
Fischer, Walther, Ueber Darmparasiten bei Gesunden u. Kranken in Shanghai, S. 135.
Freund, Ludwig, Die Stigmen und Trachealatrien der Anopluren (Läuse), S. 142.
Geilinger, Hans, Mitteilung über einen eigenartigen bakteriologischen Befund bei einer bombierten Fleischkonserve, S. 152.
van Hoogenhuijze, C. J. C., Zur Aetiologie der spanischen Grippe, S. 88.
Ihle, J. E. W., Eine neue Cylicostomum-Art (C. mucronatum) aus dem Darm des Pferdes, S. 132.
Kostrzewski, J., Untersuchungen über die Blutserumeigenschaften bei den tollwutschutzgeimpften Menschen, S. 107.
Massur, Fr. W., Verminal, ein neues Ungeziefermittel, S. 148.
Prausnitz, Carl, Weil-Felixsche Reaktion und X 19-Immunserumagglutination, S. 103.
Reitler, Rud., u. **Robicsek, Hans**, Zur Kenntnis der Flagellaten im menschlichen Harn, S. 129.
v. Werdt, Felix, u. **Kopatschek, Fritz**, Ueber das Verhalten der Ruhrbazillen in eiweißfreien Nährböden, S. 95.
Wodtke, Gerhard, Ueber den Einfluß des Bakterientoxins auf das leukozytäre Blutbild bei Typhusbazillenträgern, S. 114.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 84. Heft 3.

Ausgegeben am 15. März 1920.

Nachdruck verboten.

Ueber die Einwirkung verschiedener Methoden der Impfstoffbereitung auf den Agglutinationstiter der gegen Cholera und Typhus Schutzgeimpften.

[Aus dem Serotherapeutischen Institut des Prof. O. Bujwid in Krakau.]

Von Dr. **Stanisław Sierakowski,** Assistenten.

Mit 7 Kurven im Text.

Die ersten Beobachtungen über die Agglutination bei den prophylaktisch geimpften Menschen wurden 1905 von Bertarelli gemacht, der sich selbst 4mal die Produkte der Autolyse von Cholerabazillen eingeimpft hat. Nach der 4. Impfung betrug die Agglutination 1:40. Im größeren Maße haben diese Beobachtungen Karwacki (17) (1906) in Warschau und Serkowski (1906) in Łodź (32) durchgeführt. Erstere untersuchte bei 10 Personen nach der 2. Impfung das Blut auf Agglutination und Bakteriolyse; die Agglutination schwankte in den Grenzen von 50—400. Serkowski hat das Blut von 41 Personen auf Agglutination und Bakteriolyse hin untersucht und ähnliche Ergebnisse erhalten. Schmitz 1906 (31), Aaser 1914 (1), Nijland 1911 (25), Balteano u. Lupu 1914 (2), die sich nachher mit Blutuntersuchungen der gegen Cholera Geimpften beschäftigt haben, bestätigen die Zunahme an Agglutininen und Bakteriolysinen nach der Impfung (bei der 2. stieg sie).

Die Vakzine des Krakauer Institutes wurden stets aus möglichst frischen Stämmen erzeugt. Ich habe zu diesem Zwecke immer die schweren, tödlichen Fälle der Epidemie von 1914/15 benutzt. Einige der so erhaltenen Kulturen wurden gemischt auf einige Petri-Platten gesät. Nach 24 Stunden spülte ich die darauf gewachsenen Bakterienmassen vom Agar ab und behandelte sie mit entsprechenden chemischen Reagenzien; eventuell ließ ich auf sie die Temperatur einwirken. Nach der Sterilitätsprobe des Impfstoffes wurde dieser nach der Methode von Bujwid 1916 (7) titriert und kurz vor der Impfung mit Salzlösung verdünnt, so daß die Vakzine eine minimale Menge des gebrauchten Desinfiziens enthielt. Die Dosis der Vakzine wurde experimentell derart normiert, daß dieselbe eine weder zu starke, noch zu schwache Reaktion herbeiführen konnte; sie betrug ca. 1,5 mgr Choleraagarkultur pro 1 ccm.

Die Impfung erfolgte 2mal im Zeitraume von 4—7 Tagen. Es wurden für die 1. Impfung 1 ccm, für die 2. 2 ccm der Vakzine von gleicher Konzentration gebraucht, wobei sämtliche zum besprochenen Versuche gehörenden Personen am gleichen Tage geimpft wurden. Die Blutprobe habe ich 7—10 Tage nach der 2. Impfung vom Finger genommen, und zwar gleichzeitig von sämtlichen zum Versuche gehörenden Personen. Einige Blutstropfen wurden in ein sterilisiertes, kleines Gefäß gesammelt und schräg aufgestellt, so daß man nach der Bildung des Blutkuchens eine verhältnismäßig große Serummenge bekam. Am nächsten Tage wurde eine makroskopische Agglutinationsprobe im Röhrchen ausgeführt. Zu den Verdünnungen wurde eine mittels Formaldehyd getötete Bakterienaufschwemmung zugegeben. Für denselben

Versuch habe ich immer dieselbe Aufschwemmung in der gleichen Konzentration genommen; letztere betrug $^1/_4$ mgr in 1 ccm. Nach einer genauen Durchmischung wurden die Proben in einen Thermostat auf 2—3 Stunden gebracht, nachher aber bis zum nächsten Tage in Zimmertemperatur belassen. Jedesmal wurden einige Kontrollproben mit der Salzlösung gemacht. Außerdem kontrollierte ich, wo es die Serummenge erlaubte, das Serum, weil sich zeigte, daß, besonders in schwachen Verdünnungen, das Blutserum allein, ohne Bakterienzusatz, Niederschläge gebildet hatte. Diese Niederschläge lassen sich aber bei einiger Uebung von den Agglutinationsniederschlägen leicht unterscheiden. Die Ergebnisse wurden immer von derselben Person beobachtet und notiert. Als

Tabelle I.

Fortlauf. Nummer	Datum der I. Impfung	Datum der II. Impfung	Datum der Blutentnahme	Serumverdünnung $^1/_{10}$	$^1/_{20}$	$^1/_{30}$	$^1/_{40}$	$^1/_{60}$	$^1/_{80}$	$^1/_{120}$	$^1/_{160}$	$^1/_{240}$	$^1/_{320}$	$^1/_{480}$	$^1/_{640}$	1
I. Mittels 0,2 Proz. Formalin getötete Vakzine.																
1	8. III.	15. III.	15. III.	.	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2	2. III.	8. III.	„	.	++	.	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
3	„	„	„	.	+++	+++	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
4	„	„	„	.	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5	„	„	„	.	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6	„	„	„	.	+++	+++	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
7	„	„	„	.	+++	++	++	++	++	+	—	—	—	—	—	—
8	„	„	„	.	.	.	++	+	+	—	—	—	—	—	—	—
9	„	„	„	.	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10	„	„	„	.	.	+++	+++	+	+	—	—	—	—	—	—	—
11	„	„	„	.	++	++	++	++	—	—	—	—	—	—	—	—
12	„	„	„	.	.	++	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
13	„	„	„	.	+++	+++	++	++	—	—	—	—	—	—	—	—
14	„	„	„	.	.	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
15	„	„	„	.	.	.	.	+	—	—	—	—	—	—	—	—
16	„	„	„	.	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+	—	—	—	-
17	„	„	„	.	+++	++	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
18	„	„	„	.	.	.	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
19	„	„	„	.	++	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	-
20	„	„	„	.	+++	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
21	„	„	„	.	.	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
22	„	„	„	.	.	++	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
23	„	„	„	++	++	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
24	„	„	„	+++	+++	++	++	+	+	+	—	—	—	—	—	—

Zeichenerläuterung: +++ komplette Agglutination, ++ unkomplette, aber mit bloßem Auge sichtbare Agglutination, + nur mittels einer Lupe sichtbare Agglutination.

Weitere Teile des ausführlichen Protokolls von diesem Versuch wie auch Protokolle der späteren Versuche sind des Raummangels wegen weggelassen.

Nach der Umrechnung der erhaltenen Resultate auf Prozent und Ausscheidung der einmal Geimpften:

Vakzin getötet durch Zusatz von	Prozente der Geimpften, deren Blut agglutiniert in unter 1:60	1:60	1:80	1:120	1:160	1:240	1:320	1:480	1:640	Zahl der untersuchten Fälle
0,2 Proz. Formalin	48,8	51,6	47,3	17,2	8,6	4,3	0	0	0	23
1 „ Phenol	0	100	96,0	76,8	57,6	33,6	28,8	28,8	14,4	21
0,5 „ Phenol + Erwärmung 56° 1^h	13,2	86,8	80,6	71,3	58,9	46,5	40,3	34,1	21,7	32

Bezeichnung wurde angenommen: +++ vollständige Agglutination, ++ unvollständige, aber noch mit bloßem Auge sichtbare Agglutination, + Agglutination, die erst mit Hilfe einer Lupe sichtbar ist.

Im ganzen habe ich zu meinen Versuchen über Vakzine 424 Personen benutzt und 463 Agglutinationen ausgeführt. Davon kommen auf die Choleravakzine 259 Personen und 302 Agglutinationen, auf die Typhusvakzine dagegen 165 Personen und 185 Agglutinationen.

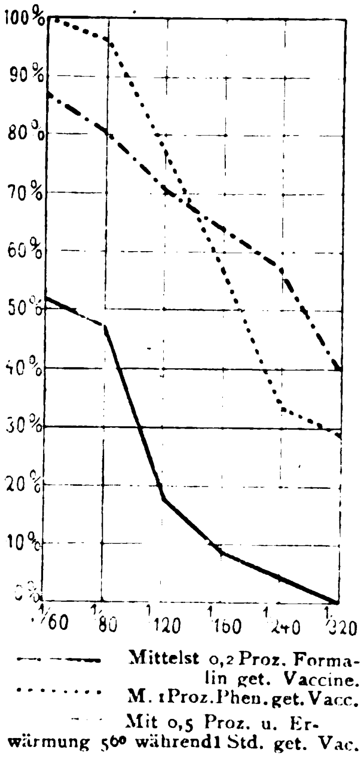
Versuch I.

Es wurden 3 Impfstoffartenarten untersucht:

1. der durch den Zusatz von 0,2 Proz. Formalin getötete Impfstoff,
2. „ „ „ „ „ 1 „ Phenol „ „
3. „ „ „ „ „ 0,5 „ „ „ „

mit nachfolgender Erwärmung auf 56° C während 1 Stunde.

Die Agglutination nach der Anwendung der Vakzine 2 und 3 blieb fast dieselbe; sie gestaltet sich erheblich geringer bei Anwendung der Vakzine 1. Es ist aber zu betonen, daß die Menge des wirksamen Stoffes bei dieser Vakzine entschieden viel kleiner war als bei den anderen, was aus der verschiedenen Wirkung des Phenols und des Formalins auf die Choleravibrionen erhellt. Formalin gerbt die Bakteriensubstanz und fixiert dieselbe, Phenol hingegen löst sie auf. Auf diese Weise bekommt man bei Anwendung der Trübungsmethode von **Bujwid** 1916 (7) zur Bakterieninhaltsbestimmung immer niedrigere Resultate für die Phenol enthaltende Vakzine. Die angestellten Vergleichsproben haben erwiesen, daß dieselbe Cholerabazillen-Aufschwemmung, die man parallel mit 0,5 Proz. Phenol und 0,2 Proz. Formalin in gleichen Mengen beschickt hat, nach Verlauf von 48 Stunden in der Phenollösung eine 2,7mal schwächere Trübung zeigte als in der Formalinlösung. Was andere Substanzen betrifft, so werden die Choleravibrionen sehr stark gelöst von Chloroform, noch stärker von Glyzerin, bedeutend schwächer dagegen von Aether.



Kurve 1.

Man müßte annehmen, daß eine kleinere Dosis von Formalinvakzine im Blute der damit Geimpften niedrigere Agglutinationen zustande bringt. Doch sind die Ansichten der Autoren in dieser Hinsicht geteilt.

Friedberger immunisierte 1902 (14) die Tiere mit minimalen Mengen getöteter Vibrionen und behauptet, daß die Größe der Dosis bei der Immunisierung keine Rolle spiele; erst die 500—1000mal kleineren Mengen rufen eine erhebliche Zurücksetzung der bakteriolysierten Eigenschaften bei den geimpften Tieren hervor. **Friedberger** und **Moreschi** stellten 1905 (15) fest, daß die Menge der Antikörper nur dann der Impfdosis proportional ist, wenn der Impfstoff stark angegriffen ist, z. B. durch eine trockene Temperatur von 150° oder eine feuchte von 100°. Bei anderen Impfstoffen besteht diese Proportionalität nicht; im Gegenteil kommt es vor, daß kleinere Dosen bemerkbare Resultate liefern.

Leishman, **Harrison**, **Smallman**, **Tulloch** immunisierten 1906 (19) ihre Versuchspersonen gegen Typhus mit einer Bouillonvakzine, die durch Erwärmen auf 62° C während 15′ getötet wurde. Sie bemerkten dabei, daß bei kleineren Dosen die

Reaktion verhältnismäßig schwächer war. Endlich haben **Löwy** und **Bruch** 1913 (20) festgestellt, daß nach größeren Impfdosen die Reaktion stärker war.

Bei unseren Versuchen sind die Agglutinationsunterschiede nach dem Gebrauche des mit 0,2 Proz. Formalin und 1 Proz. Phenol getöteten Impfstoffes so groß, daß es nicht mehr statthaft erscheint, dieselben ausschließlich durch die Mengendifferenz in der Dosierung zu erklären, vielmehr eine besondere Wirkung des Formalins angenommen werden muß. Weitere Versuche (3) bestätigten diese Annahme; überall sind nämlich die Impfdosen im Verlaufe desselben Versuches vollständig gleich, weil ich den Impfstoff vor dem Zusatz des Desinfiziens, event. vor dem Erwärmen, bestimmt habe. Die Differenzen in der Dosierung zwischen verschiedenen Versuchen können bis 20 Proz. betragen.

Weiterhin ist zu bemerken, daß unter den beobachteten Fällen auch solche vorkamen, wo das Blutserum, trotz der 2maligen Impfung, überhaupt nicht agglutinierte. Diese Besonderheit wurde schon früher bemerkt.

So z. B. berichtet **Hoffmann** 1902 (16), daß das Serum der Typhuskranken in einigen Fällen keine Agglutination aufweist. Von **Maverick** 1912 (22) wird ein Fall beschrieben, wo, trotz 3maliger Impfung mit verschiedenen Vakzinen und in verschiedenen Zeiten, die Agglutination in der Verdünnung von 1 : 50 ausblieb, wogegen sie in der Familie des Geimpften sehr hoch war.

Versuch II.

Der Impfstoff wurde durch Zusatz von 50 Proz. Glyzerin abgetötet. Durch Zusatz von 50 Proz. sterilisierten Glyzerins wird eine Choleravibrionenaufschwemmung nach 48-stündiger Einwirkung vollkommen steril gemacht. Schon nach 24 Stunden bemerkt man eine starke Herabsetzung des lebenden Inhalts; das Glyzerin wirkt also sehr langsam auf die Cholerabazillen. Auf andere Bazillenarten wirkt es aber noch langsamer. Die Typhusbakterien können während 6 Wochen in einer 50-proz. Glyzerinlösung lebend bleiben. Ihre Anzahl vermindert sich zwar, aber sie tut dies in gleicher Weise auch in den Kontrollproben, die bloß die Salzlösung enthalten. Das Glyzerin wird von jeher zur Konservierung der Antigene, wie Blattern und Lyssa, sowie der Antikörper, wie das Diphtherie-Antitoxin, mit Erfolg gebraucht. Es war schon im voraus ersichtlich, daß die Serumreaktion nach einer mit Glyzerin sterilisierten Vakzine stark ausfallen wird, weil dieses Reagenz wegen seiner langsamen Wirkung die Bakterien selbst nur wenig beschädigt.

Zur Kontrolle habe ich eine gleiche Anzahl von Menschen mit der mit 0,5 Proz. Phenol getöteten Vazkine geimpft. Leider ist es uns nur gelungen, von 4 dieser Personen das Blut zu den Agglutinationsproben zu entnehmen.

Tabelle II.

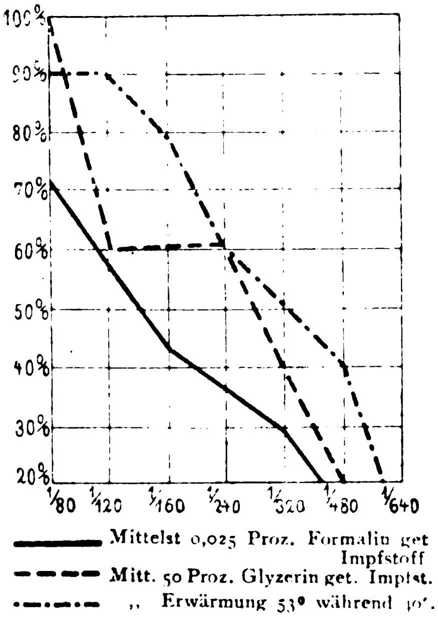
Nach der Umrechnung der erhaltenen Resultate auf Prozent:

Vakzine getötet durch Zusatz von	Prozent der Geimpften, deren Blut agglutiniert in:									Zahl der untersuchten Fälle
	1 : 120	1 : 160	1 : 240	1 : 320	1 : 480	1 : 640	1 : 960	1 : 1280	1 : 1920	
50 Proz. Glyzerin	98	98	98	98	91	70	49	7	7	14
0,5 „ Phenol	100	100	75	75	75	25	25	25	0	4

Die Agglutination bei den Geimpften, bei denen der Impfstoff gebraucht wurde, ist viel stärker als bei den früher besprochenen. Es ist wirklich bedauernswert, daß die Zahl der zwecks Kontrolle Geimpften so gering ist und dadurch die Anstellung eines genaueren Vergleichs verhindert wird. Das 50-proz. Glyzerin wurde 1898 von **Pfeiffer** und **Marx** (26) zur Konservierung des Cholera- und Typhusimpfstoffes verwendet. Die von diesen Autoren mit Glyzerin erhaltenen Resultate waren viel ungünstiger als mit 0,5-proz. Phenol. Bei unseren Versuchen verblieb der Impfstoff während 2 Wochen in 50-proz. Glyzerin. Vielleicht hatte das Glyzerin noch nicht Zeit genug, seine nachteilige Wirkung geltend zu machen.

Versuch III.

1. Impfstoff, getötet durch Zusatz von 50 Proz. Glyzerin.
2. „ „ „ Erwärmen auf 53° während 40 Min.
3. „ „ „ Zusatz von 0,025 Proz. Formalin.
4. „ „ „ „ „ 0,5 „ Phenol.



Kurve 2.

Bei diesem Versuche wurden minimale Mengen von Desinfektionsmitteln gebraucht, welche die Choleravakzine in Gestalt einer dicken Aufschwemmung noch zu sterilisieren vermögen. 0,025 Proz. Formalin tötet Choleravibrionen noch in einer dichten Aufschwemmung; 0,01 Proz. reicht hierzu aber nicht mehr aus. 50 Proz. Glyzerin tötet die genannten Bakterien in 48 Stunden. Ich habe versucht, die Prozentzahl des Glyzerins herabzusetzen, aber der Zusatz von 20 Proz. und 30 Proz. Glyzerin verursachte nach 18 Tagen bloß einen kaum bemerkbaren Rückgang der lebenden Bazillen.

An erster Stelle müssen wir den Impfstoff erwähnen, welcher durch die Einwirkung niedriger Temperaturen während einer kurzen Zeit sterilisiert wurde; hierauf jenen, der durch Zusatz von 50 Proz. Glyzerin, ferner den durch 0,5 Proz. Phenolzusatz und endlich den durch Zusatz von 0,025 Proz. Formalin getöteten Impfstoff; letzterer greift selbst in minimalen Mengen die Choleravibrionen sehr stark an. Die individuellen Agglutinationsschwankungen im Serum der Geimpften pflegen sehr beträchtlich zu sein; wie bereits erwähnt, gibt das Serum gewisser Geimpften gar keine Agglutination; andererseits aber begegnen wir Fällen von sehr hoher Agglutination.

Tabelle III.

Nach der Umrechnung der erhaltenen Resultate auf Prozent.

Vakzine getötet durch Zusatz von	Prozent der Geimpften, deren Blut agglutiniert in:										Zahl der untersuchten Fälle
	1/60	1/80	1/120	1/160	1/240	1/320	1/480	1/640	1/960	1/1280	
50 Proz. Glyzerin	100	100	60	60	60	40	20	20	20	0	5
53° 40′	90	90	90	80	60	50	40	10	0	0	10
0,025 Proz. Form.	71	71	56,8	42,6	35,5	28,4	14,2	7,1	7,1	7,1	14
0,5 Proz. Phenol	.	.	75	50	50	25	12,5	0	0	0	8

Unter den mit Formalinvakzine Geimpften, welche überhaupt sehr niedrige Reaktionen gibt, hat eine Person noch bei der Verdünnung von 1 : 1280 Agglutination gezeigt.

Solche hochgradige Reaktion pflegt sonst nicht aufzutreten, und zwar selbst nach Anwendung von besten Choleravakzinen; somit dürfte dieselbe nur als eine Ausnahme zu betrachten sein, welche eher auf die besprochene Person, als auf die Beschaffenheit des Impfstoffes zurückzuführen wäre.

Um das Gesamtergebnis durch derartige individuelle Schwankungen nicht beeinflussen zu lassen, ist es unumgänglich notwendig, mit jeder Vakzine eine möglichst große Personenzahl zu impfen.

Der Impfstoff, den wir bei niedriger Temperatur und während einer kurzen Zeit sterilisiert haben, gibt sehr gute Resultate, seine Anwendung aber muß aus praktischen Rücksichten beschränkt bleiben. Ein solcher Impfstoff ohne irgendwelchen chemischen Zusatz unterliegt nämlich, trotz vorsichtigster Behandlung, sehr leicht der Zersetzung. Um die Entwicklung fremder Bakterien zu hemmen, welche bei Behandlung des Impfstoffes eindringen könnten, ist derselbe mit Desinfektionsmitteln zu beschicken, und zwar in einer Dosis, die an und für sich zur Abtötung der Choleravibrionen ausreichend wäre, da dieselben gegen die Einwirkung des Desinfiziens verhältnismäßig stark empfindlich sind.

Angesichts dessen wäre das Erwärmen überflüssig und würde nur die Aufschwemmung ganz unnötigerweise angreifen. Deswegen soll diese Art Impfstoffzubereitung nur dann Anwendung finden, wenn es sich darum handelt, die Vakzine rasch zum sofortigen Gebrauche herzustellen. Der Glyzerinimpfstoff scheint in diesem Versuche viel schlechtere Resultate als früher zu zeigen, die aber dennoch besser sind als die mit anderen Vakzinen erzielten Agglutinationen. Die Anwendung einer derartigen, theoretisch einwandfreien Vakzine bereitet gewisse Schwierigkeiten, da das Glyzerin, ähnlich wie das Erwärmen, für die Sterilisierung von Choleravibrionen-Aufschwemmung wohl geeignet ist, doch keineswegs zu deren längerem Aufbewahren benutzt werden kann, weil es die Choleravakzine stärker angreift als die übrigen Mittel [**Pfeiffer**, **Marx** (26)].

Dabei sei noch erwähnt, daß Injektionen von Flüssigkeiten mit stärkerem Glyzeringehalt sehr schmerzhaft sind.

Versuch IV.

1. Vakzine, sterilisiert durch Zusatz von 10 Proz. Aether.
2. „ „ „ „ „ 10 „ Chloroform.

Tabelle IV.

Nach der Umrechnung der erhaltenen Resultate auf Prozent.

Vakzine getötet durch Zusatz von	Prozent der Geimpften, deren Blut agglutiniert in:									Zahl der untersuchten Fälle
	unter 1 : 60	1 : 60	1 : 80	1 : 120	1 : 160	1 : 240	1 : 320	1 : 480	1 : 640	
Chloroform 10 Proz.	50	50	50	30	10	0	0	0	0	10
Aether 10 Proz.	30,8	69	65	57,6	38,4	34,6	19,2	15,4	3,8	26

Chloroform gibt besonders niedrige Resultate. Die Hälfte der Geimpften agglutiniert 1 : 60; kein Blut reagiert in einer höheren Verdünnung als 1 : 160. Bei den 2 nicht agglutinierenden Proben haben wir einen feinkörnigen Niederschlag bemerkt. Von diesen so unbedeutenden Resultaten hebt sich die Agglutination bei einer Person stark ab, die bei der 2. Impfung die Vakzine mit Zusatz von 0,5 Proz. Phenol zufälligerweise bekommen hat. Ihre Agglutination beträgt 1:960.

Aehnliche Resultate wurden von Friedberger und Moreschi bei ihren Versuchen mit Tieren erhalten. Die Agglutination nach dem mit Chloroformdämpfen getöteten Choleraimpfstoff war sogar in der Verdünnung von 1:10 negativ. Diese Autoren haben ähnliche Proben auch mit Typhusvakzine durchgeführt, jedoch war hier die Zurücksetzung des Agglutinationsgrades in so hohem Maße nicht bemerkbar. Reiter und Silberstein immunisierten 1915 (28) Tauben mit verschieden zubereiteten Typhusvakzinen. Sie erhielten die besten Resultate mit dem durch Chloroformdampf getöteten Impfstoff. Dieses Mittel wirkt in verschiedener Weise auf Cholera- und Typhusbazillen ein; infolgedessen ist die Agglutination im Blut der mit Choleravakzinen Geimpften eine sehr niedrige, wogegen die auf gleiche Weise bereitete Typhusvakzine recht gute Resultate gewährt.

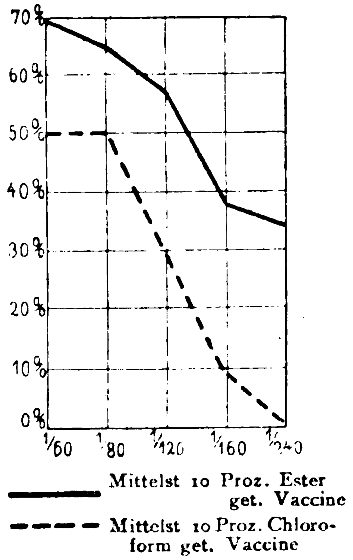
Ganz ähnlich wie Chloroform verhält sich auch Formalin den Typhus- und Choleravakzinen gegenüber. Dieses Mittel greift die Choleravibrionen stark an (s. Versuche III und V); wie wir aber später sehen werden[1]), erhielten wir mit einem durch Formalin abgetöteten Typhusimpfstoff außerordentlich gute Resultate.

Reiter und Silberstein erklärten 1915 (28) Formalin, neben Chloroform, für das beste, zur Bereitung von Typhusvakzine zu verwendende Desinfektionsmittel. Russel konstatierte 1911 (29) gleichfalls, daß von sämtlichen Desinfektionsmitteln schwaches Formalin die Typhusbazillen am wenigsten angreift.

Wir sehen also, daß bei Bereitung von Schutzvakzine dem individuellen Verhalten einzelner Bakterienarten verschiedenen Desinfektionsmitteln gegenüber Rechnung zu tragen ist.

Aether, welcher in unserem Versuche verhältnismäßig niedrige Resultate gibt, die aber dennoch viel besser sind als die mit Chloroform erzielten, wurde von Negre 1913 (24) zur Abtötung des Typhusimpfstoffes gebraucht. Negre hat aus dem Blute der geimpften Tiere im Vergleich mit den lebenden, oder durch Erwärmung sterilisierter Vakzinen ziemlich viel Agglutinin, aber wenig Bakteriolysin und Komplement bindende Körper erhalten.

1915 wurde Aether von Vincent (35) zur Sterilisierung der Choleravakzinen angewendet. Die mit diesem Impfstoff und bei Tieren erhaltenen Resultate waren gut, die Reaktion nach der Impfung war gering. Löwy impfte 1915 (21) den Tieren Typhusvakzine mit Aetherzusatz ein und erhielt hohe Agglutinationen.



Kurve 3.

Beim Durchsehen der Tabelle der mit Aetherimpfstoff geimpften Personen läßt sich in vielen Fällen die Hemmung der Agglutinationserscheinung bei starken Serumkonzentrationen bemerken. Diese Beobachtung wurde schon von vielen Autoren gemacht [Ceritto 1904 (8), de Blasi 1903 (6)].

Versuch V.

1. Impfstoff, sterilisiert bei 120° C während 15 Min.
2. „ „ „ 100° C „ 15 „
3. „ „ „ 80° C „ 30 „
4. „ „ „ 53° C „ 30 „
5. „ „ durch Einwirkung von 0,5 Proz. Phenol.
6. „ „ „ „ „ 1 „ Formalin.
7. „ „ „ „ „ 0,2 „ Formalin.

---

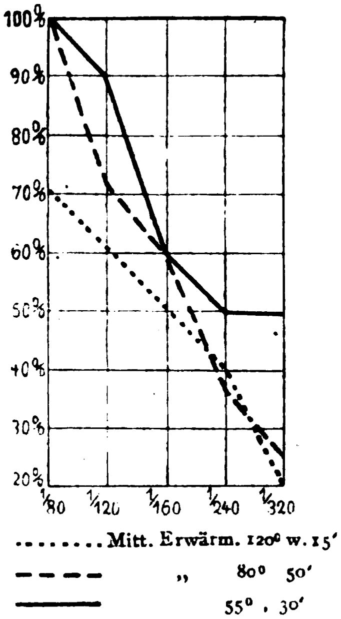
[1] Siehe den II. Teil meiner Arbeit über Typhusimpfungen.

Tabelle V.

Nach der Umrechnung der erhaltenen Resultate auf Prozent.

Vakzine getötet durch	Prozent der Geimpften, deren Blut agglutiniert in:									Zahl der untersuchten Fälle
	1:60	1:80	1:120	1:160	1:240	1:320	1:480	1:640	1:960	
120° 15′	90	70	60	50	40	10	0	0	0	10
100° 15′	100	85	85	85	85	25	12	12	0	8
80° 30′	100	110	73	60	38	25	12	12	12	8
53° 30′	100	100	90	60	50	50	90	10	10	10
0,5 Proz. Phenol	100	100	100	88	75	50	38	12	12	8
1 „ Formalin	56	56	56	28	28	28	14	0	.	7
0,2 „ „	100	85	68	68	51	51	51	17	.	6
0,025 „ „	100	100	100	100	33	33	0	0	.	3

Aus der Tabelle geht hervor, daß selbst Dampf bei 120° nicht imstande ist, die Agglutinin erzeugende Substanz zu zerstören; diese wird aber sehr stark beeinträchtigt, da die Agglutination bei den mit der genannten Vakzine Geimpften im Vergleich mit einer bei niedriger Temperatur sterilisierten Vakzine eine außerordentlich geringe ist.



Kurve 4.

Friedberger und Moreschi haben 1905 (15) versucht, die Tiere mit einer durch hohe Temperatur sterilisierten Vakzine zu immunisieren. Die trockene Temperatur von 150° hat keine zufriedenstellenden Resultate geliefert. Hingegen gelang es ihnen bei Anwendung einer Temperatur von 120°, die Tiere einwandsfrei zu immunisieren. Dampf soll nach diesen Autoren die Bakterien viel stärker schädigen als trockene Wärme. Es existiert diesbezüglich eine interessante Diskussion zwischen Vincent (34) und Chantemesse (9). Vincent behauptete, daß die auf 100° erwärmte Typhusvakzine zur Immunisierung nicht mehr dienen könne. Chantemesse aber ist der Ansicht, daß eine Typhusvakzine, die man bei 100° während 1 Stunde oder bei 120° 10 Min. erwärmt, ihre Eigenschaft, Antikörper zu bilden, nicht eingebüßt habe.

Aus unseren Versuchen können wir schließen, daß die agglutininbildende Kraft des Impfstoffes mit zunehmender Temperatur und Erwärmungszeit abnimmt. Eine bis auf 120° erwärmte Vakzine gibt niedrigere Agglutinationen als eine bei 100° sterilisierte; ihrerseits hat sich aber diese bedeutend schlechter erwiesen als eine nur bis auf 53° erwärmte Vakzine. Eine Abweichung von dieser Regel haben wir bei dem durch Erwärmung auf 100° während 15 Min. sterilisierten Impfstoff beobachtet. In Verdünnungen von 1:240 und 1:160 bewirkt er eine stärkere Agglutination als eine bei 53° sterilisierte Vakzine. In sämtlichen anderen Serumverdünnungen der nämlichen Personen (1:60, 1:80, 1:120, 1:320, 1:480 usf.) gibt dagegen schwächer erwärmte Vakzine eine höhere Prozentzahl.

Die Agglutinationen nach den während 30 Min. bis auf 80° erwärmten Impfstoffen, verglichen mit einer bis 100° während 15 Min. erwärmten Vakzine, zeigen keine größeren Unterschiede, was beweist, daß eine niedrige, länger einwirkende Temperatur denselben Einfluß übt wie eine höhere, verhältnismäßig kürzer anhaltende Wärme.

Der besprochene Versuch kann zugleich auch als Prüfung meiner Untersuchungsmethode dienen. Wir sehen nämlich, daß im Falle, wo ein Faktor auf die Agglutination herabsetzend einwirkt, dessen Einfluß mit steigender Intensität systematisch stärker wird, wie dies im letzten Falle mit der Temperaturzunahme geschah. Auf einen solchen Versuch gestützt, erlangen wir die Gewißheit, daß wir nicht etwa zufälligen Agglutinationsschwankungen gegenüberstehen, sondern daß deren Grad in engem Zusammenhange mit den von mir geänderten Verfahrenbedingungen wechselt.

In gleicher Weise habe ich, behufs Prüfung meiner Methode, Versuche mit Formalin von wechselnder Konzentration angestellt, um nachzuweisen, ob auch hier ein derartig enger und systematischer Zusammenhang besteht. Wir sehen nun, daß höheren Konzentrationsgraden eine niedrigere Agglutination entspricht.

Ungeachtet der beträchtlichen individuellen Schwankungen, kann bei immunisierten Menschen der Einfluß der Bereitungsmethode von Vakzinen auf die Agglutinationshöhe konstatiert werden. Selbstverständlich, wie dies auch sonst bei jeglichen derartigen Forschungen der Fall ist, sind deren Ergebnisse um so zuverlässiger und allgemeiner, je größer die Zahl der Untersuchten ist.

Versuch VI.

Wann erscheinen Agglutinine im Blute der mit Choleravakzine Immunisierten und wie rasch verschwinden dieselben?

Ich habe das Blut von 3 Personen auf Agglutination hin untersucht, und zwar unmittelbar vor der Impfung, sowie 48 und 96 Stunden nach derselben. Nach 48 Stunden konnte im Blute dieser 3 Personen ein Zuwachs der Agglutininzahl festgestellt werden. Wenn also auch in der auf Impfung mit Choleravakzine folgenden Agglutination eine negative Phase auftritt, so hält dieselbe dennoch kürzer als 48 Stunden an.

6 Monate nach 2maliger Impfung mit Choleravakzine sind die Agglutinine aus dem Blute der Immunisierten verschwunden. Ich habe an einer, aus 20 vor 6 Monaten geimpften Personen bestehenden Gruppe einschlägige Versuche ausgeführt, wobei es sich zeigte, daß die höchste Agglutination 1 : 20 betragen hat.

Tabelle VI.

Fortlaufende Nummer	Agglutination 6 Monate nach der ersten 2mal. Impfung	Zweite Impfung		Agglutination 6 Monate nach der zweiten Impfung
		Agglutination		
		5 Tage nach der 1. Impf.	7 Tage nach der 2. Impf.	
1	1/20 —	1/80 +	1/80 +	1/30
2	1/10 —	1/120 +	1/320 +	—
3	1/20 +	1/120 +	1/80 +	1/20
4	—	1/160 +	1/160 +	1/10
5	1/40 +	1/160 +	1/240 +	1/60
6	1/10 +	1/60 +	1/80 +	1/10
7	1/80 +	1/120 +	1/240 +	1/20
8	1/20 +	1/240 +	1/320 +	1/60
9	1/40 +	1/120 +	—	—
10	1/80 +	1/160 +	—	—
11	1/10 —	1/80 +	1/160 +	1/40
12	1/60 +	1/160 +	1/240 +	1/30
13	1/10 —	1/80 +	1/240 +	1/30

Ich hatte Gelegenheit ein und dieselbe, 13 Personen zählende Gruppe mehrmals zu untersuchen (Tab. VI), und zwar das 1. Mal 6 Monate nach 2-maliger Impfung mit Choleravakzine, das 2. Mal 5 Tage nach der ersten wiederholten Impfung mit Choleravakzine, das 4. Mal endlich 6 Monate nach der wiederholten Impfung mit Choleravakzine.

Wie wir sehen, ging 6 Monate nach 2-maliger Impfung die Agglutination bis zu der bei gesunden Menschen beobachteten Norm zurück. Einige Tage nach der 1. und 2. wiederholten Impfung ist die Agglutination gestiegen, ohne jedoch im allgemeinen diejenige Höhe zu überschreiten, welche bei den zum 1. Mal Geimpften wahrgenommen wird.

Zuletzt, 6 Monate nach der 2. Impfung, ist die Agglutination, ähnlich wie das 1. Mal, auf die Norm herabgesunken.

Zweiter Teil.

Agglutination bei gegen Typhus geimpften Personen.

Die diesbezüglichen Untersuchungen wurden 1896 von **Pfeiffer** und **Kolle** (27) („Experimentelle Untersuchungen zur Frage der Schutzimpfung gegen Typhus abdominalis“) begonnen. Diese Autoren haben einen Bouillonimpfstoff angewendet, welcher während einer Stunde auf 56° erwärmt wurde. In den folgenden Jahren haben sich mehrere andere Forscher für diese Frage interessiert und sie so weit aufgeklärt, daß nunmehr über die Nützlichkeit der Typhusimpfung kein Zweifel mehr besteht.

Die Agglutination nach der Typhusimpfung tritt viel stärker auf, als wir es jemals bei der Cholera beobachtet haben. Ihre Höhe kann zwischen 0 und 20000 schwanken, wogegen wir bei der Cholera Agglutinationen über 1000 hinaus nur ausnahmsweise konstatieren konnten. Infolgedessen ist es unentbehrlich, um irgendwelche Aufschlüsse erhalten zu können, eine größere Anzahl von Personen zu untersuchen. Es könnte wahrscheinlich erscheinen, daß bei einer so großen Differenzskala die Unterschiede in der Impfstoffvorbereitung deutlicher zum Vorschein kommen; dies ist aber auch nicht der Fall, sondern es scheint, daß die die Agglutination hervorrufenden Substanzen des Typhus so widerstandsfähig sind, daß erst viel kräftigere Mittel ihre Wirkung herabzusetzen imstande sind.

Sowohl die Typhus- als auch die Choleravakzine wurden im Institut des Prof. O. **Bujwid** in Krakau aus mehreren, möglichst frischen und virulenten Stämmen bereitet. Die experimentell festgesetzte, eine nicht allzu starke Reaktion herbeiführende Dosis betrug $^1/_2$ mg Bakterien für die 1. Impfung und 1 mg für die 2. Mit Rücksicht auf die stärkere und länger anhaltende Reaktion ist zwischen der 1. und 2. Injektion ein etwas größerer Zeitraum gelassen worden als nach Impfungen mit Choleravakzine. Die Blutprobe und Agglutination führte ich nach der gleichen Methode aus, wie die Impfungen von Choleravakzine, nur mit dem Unterschiede, daß ich dabei das Serum bedeutend stärker verdünnte (von 1 : 600 aufwärts).

Versuch I.

1) Der Impfstoff wurde während 1 Std. auf 56° erwärmt, mit 0,5 Proz. Phenol versetzt und sensibilisiert.

2) Dem Impfstoff wurde 0,05 Proz. Formalin zugefügt.

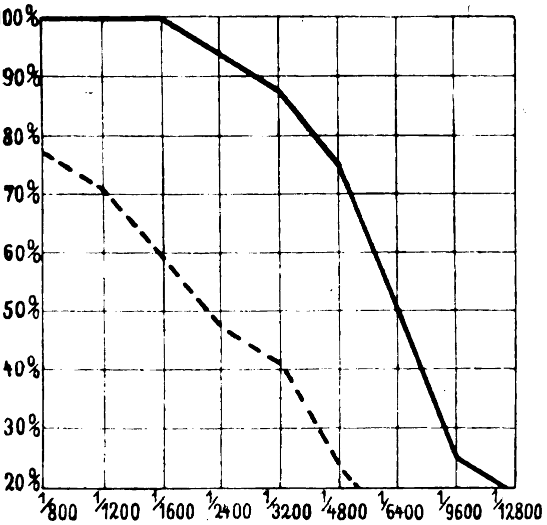
Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Fortlaufende Nummer	Datum der 1. Impfung	Datum der 2. Impfung	Datum der Blutentnahme	Serumverdünnung 1/300	1/400	1/600	1/800	1/1200	1/1600	1/2400	1/3200	1/4800	1/6400	1/9600	1/12800	1/19200
I. Mittels Erwärmung auf 56° während 1 Std. mit 0,5 Proz. Phenolzusatz getötete Vakzine sensibilisiert.																
1	26. März	2. April	10. April	.	.	+++	+++	+++	++	+	+	+	—	—	—	—
2	dgl.	dgl.	dgl.	+++	+++	++	++	++	+	—	—	—	—	—	—	—
3	„	„	„	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+	—	—	—
4	„	„	„	.	.	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5	„	„	„	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	—	—	—
6	„	„	„	+++	+++	+++	+++	++	+	—	—	—	—	—	—	—
7	„	„	„	.	.	.	.	++	++	++	+	+	—	—	—	—
8	„	„	„	+	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
9	„	„	„	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	—	—	—	—
10	„	„	„	+++	+++	++	+++	++	++	+	+	—	—	—	—	—
11	„	„	„	+++	+++	+++	+++	+++	—	—	—	—	—	—	—	—
12	„	„	„	++	+++	++	++	++	—	—	—	—	—	—	—	—
13	„	„	„	.	.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
14	„	„	„	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	+	—	—	—	—	—
15	„	„	„	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
16	„	„	„	++	++	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
17	„	„	„	+++	+++	+++	+++	++	++	++	+	+	—	—	—	—
II. Mittels 0,05 Proz. Formalin getötete Vakzine.																
18	26. März	2. April	10. April	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	—	—	—	—	—	—
19	dgl.	dgl.	dgl.	.	.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	—
20	„	„	„	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	—	—	—	—	—	—
21	„	„	„	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	—	—	—	—
22	„	„	„	.	.	+++	+++	+++	++	+	+	+	—	—	—	—
23	„	„	„	.	.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	—	—
24	„	„	„	.	.	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+	—	—	—
25	„	„	„	.	.	+++	++	++	+	+	—	—	—	—	—	—
26	„	„	„	.	.	+++	+++	+++	++	++	++	+	+	—	—	—
27	„	„	„	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	±	—	—	—	—
28	„	„	„	.	.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+
29	„	„	„	.	.	+++	+++	++	++	+	+	+	—	—	—	—
30	„	„	„	.	.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	—	—	—
31	„	„	„	.	.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	—
32	„	„	„	.	.	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+	—	—	—
33	„	„	„	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—	—	—	—

Nach Umrechnung auf Prozent.

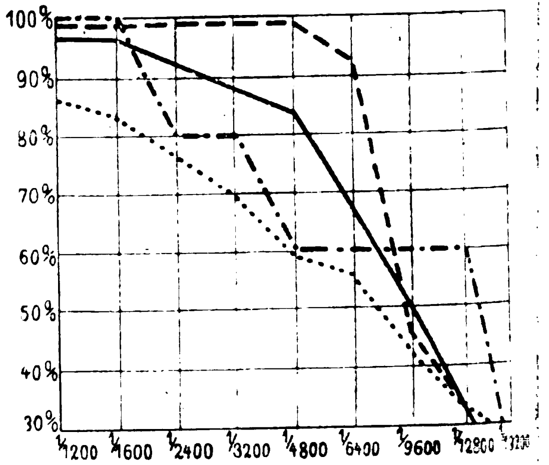
Vakzine	Prozent der Geimpften, deren Blut agglutiniert in 1 : 600	1 : 800	1 : 1200	1 : 1600	1 : 2400	1 : 3200	1 : 4800	1 : 6400	1 : 9600	1 : 12 800	1 : 19 200	Zahl der unters. Fälle
56° 1 g + 0,5 Proz. Phenol sensibilisierte	94,4	76,7	70,8	59,0	47,2	41,3	23,6	11,8	0	0	0	17
0,05 Proz. Formalin	100	100	100	100	93,75	87,50	75,00	50,00	25,00	18,75	6,25	16

Die sensibilisierte Vakzine wurde folgendermaßen hergestellt: eine sterilisierte Aufschwemmung von Typhusbazillen wurde mit einer minimalen Menge von hochagglutinierendem Pferdetyphusserum beschickt. Infolge der Serumwirkung agglutinierten die Bakterien unter Bildung eines Bodensatzes. Nachdem ich die leicht opalisierende Flüssigkeit über dem Bodensatze dekantiert hatte, um den Ueberschuß von Typhusserum zu beseitigen, habe ich dieselbe nachträglich durch physiologische Kochsalzlösung ersetzt. 1 ccm so sensibilisierter Vakzine enthielt, nach der Verdünnung, höchstens $^1/_{4000}$ ccm Serum[1]). Den anderen Impfstoff habe ich mit 0,05 Proz. Formalin abgetötet. Diese Formalinkonzentration reicht nämlich vollkommen aus, um eine dicke Typhusbakterienaufschwemmung gründlich zu sterilisieren; geringere Konzentrationen haben unsichere Resultate ergeben. Nach der Sterilitätsprobe wurde die Bazillenmenge nach Prof. Bujwid 1915 (7) bestimmt.



———— Mittelst. 0,05 Proz. Formalin get. Vaccine.
- - - - „ 0,5 „ Phenol, Erwärmung 56° während 1^h sensibilisiert.

Kurve 5.



———— Mittelst 0,05 Proz. Formalin get. Vacc.
- - - - „ 1 Proz. Phenol sensibilisiert
········ „ 1 „ „ nicht sensibil.
-·-·-·- „ Erwärmung 56° während 1^h.

Kurve 6.

Die Agglutination bei den mit Formalinimpfstoff geimpften Personen ist viel höher als bei denen, die den auf 56° erwärmten und mit 0,5 Proz. Phenol versetzten Impfstoff bekamen.

Versuch II.

Es wurden folgende Impfstoffe verglichen:

1. Impfstoff, durch Zusatz von 0,05 Proz. Formalin getötet,
2. „ „ Erwärmung während 1 Stunde auf 56°,
3. „ „ 1 Proz. Phenolzusatz getötet,
4. „ „ 1 Proz. Phenolzusatz getötet und sensibilisiert.

Die besten Resultate wurden durch den sensibilisierten, mit 1 Proz. Phenol versetzten Impfstoff erhalten. In den höchsten Verdünnungen (1 : 19200, 1 : 12800, 1 : 9600) agglutiniert er gleich oder sogar schwächer als die anderen Impfstoffe, aber, von 1 : 6400 beginnend, gewinnt er un-

---

[1]) Diese Methode ist mir von Prof. O. Bujwid mündlich mitgeteilt worden.

Tabelle VIII.

Impfstoff getötet durch	Prozent der Geimpften, deren Blut agglutiniert in:											Zahl der untersuchten Fälle
	1 : 600	1 : 800	1 : 1200	1 : 1600	1 : 2400	1 : 3200	1 : 4800	1 : 6400	1 : 9600	1 : 12 800	1 : 19 200	
0,05 Proz. Formalin	100	100	96,6	96,6	92,4	88,2	84,0	67.2	50,4	33,6	12,6	14
56° 1 Std.	100	100	100	100	80	80	60	60	60	60	20	10
1 Proz. Phenol	95,7	92,4	85,8	82,5	75,9	69,3	59,4	56,1	42,9	33	26,4	30
1 Proz. Phenol sensibilisiert	99	99	99	99	99	99	99	92,4	46,2	33	13,2	15

streitig die Oberhand. Obwohl die angeführten Experimente nicht endgültig sind und eine Bestätigung benötigen, kann ihnen doch entnommen werden, daß die Agglutinationen nach der Anwendung von sensibilisiertem Impfstoff im Durchschnitt keineswegs schwächer ausfallen und die Geimpften gleichmäßiger als sonst reagieren. Wir bemerken hier keine hohen Agglutinationstiter, aber auch keine sehr niedrigen — die Menschen reagieren gleichartiger.

Die Ansichten der Forscher, welche sich mit dieser Frage beschäftigten, sind geteilt.

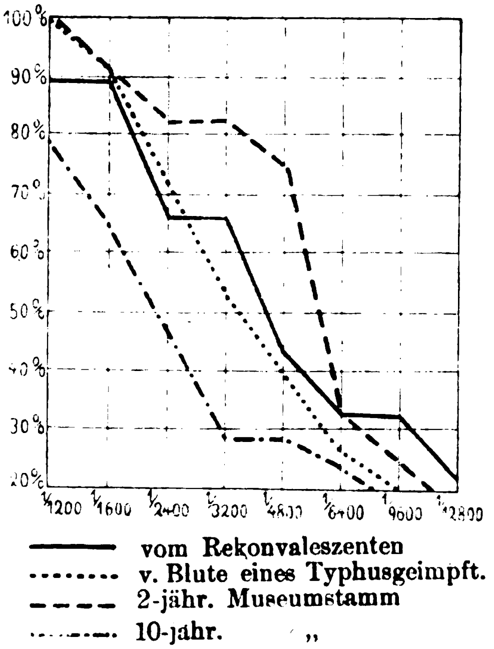
Bessau behauptet 1912 (5), daß die Typhusvakzine mit Zusatz von entsprechendem Serum eine schwächere Immunität verleiht als die nicht sensibilisierte. O. Löwy hat 1915 bemerkt, daß die mit sensibilisiertem Impfstoff immunisierten Tiere im allgemeinen niedriger agglutiniert haben, daß aber der Inhalt an komplementbindenden Körpern bei ihnen stärker war als nach der Einimpfung der nicht sensibilisierten Vakzinen. Metschnikoff und Besredka behaupten 1911, auf Grund ihrer, an Affen durchgeführten Versuche, daß nur lebendige, sensibilisierte Bakterien diese Tiere vor der Infektion zu schützen vermögen.

Die Resultate, die wir mit Formalinimpfstoff erhielten, können auch als sehr befriedigend bezeichnet werden. Sie stehen vollständig im Einklang mit den Ergebnissen der anderen Autoren (Russel 1911, Reiter und Silberstein 1915) nach denen Formalin die Typhusbakterien am wenigsten angreift.

Der durch Erwärmen auf 56° während 1 Stunde sterilisierte Impfstoff stand dem Formalinimpfstoff nur wenig nach. Wegen der schwierigen und begrenzten Konservierung kann er, ähnlich wie der analog präparierte Choleraimpfstoff, für Massenanwendung nicht in Frage kommen. Der gewöhnlich zwecks Konservierung beigemengte 0,5-proz. Phenolzusatz reicht zwar allein nicht aus, um eine dicke Typhusbazillenemulsion zu töten (nach einer 36-stündigen Wirkung sind noch nicht alle Bazillen tot), aber 0,7 – 0,8 Proz. Phenol genügt hierzu vollkommen. Unmittelbar nach Sterilisierung einer Vakzine vermittels stärker konzentrierten Phenols kann dieselbe mit 0,5 Proz. Phenol verdünnt werden, um die Einwirkung dieses Desinfizienz möglichst abzuschwächen.

Von manchen Autoren, z. B. Dünner 1915, wird die Ansicht ausgesprochen, daß die individuellen Unterschiede in den Agglutinationshöhen, die sich bei den geimpften Personen beobachten lassen, viel größer sind als die Differenzen, welche auf Anwendung von verschieden präparierten Vakzinen zurückzuführen sind. Dies mag stimmen, wenn es sich um den Vergleich einzelner Personen untereinander handelt; sobald aber diese Vergleiche auf Grund eines umfangreichen statistischen Materials durchgeführt werden und ganze Personengruppen umfassen, ist es sicher nicht zutreffend. Die Vorteile der statistischen Methode treten hier sofort zutage; das Individuelle tritt vor der Zahl zurück und die Eigentümlichkeiten der verschiedenen Impfstoffe erscheinen deutlich und unzweifelhaft.

Die in Rede stehende Wirkung kann nicht allein dann wahrgenommen werden, wenn wir miteinander Agglutinationen von Personen vergleichen, die zu einem und demselben Versuche gehören und sich also in gleichen Verhältnissen befinden, sondern sie ist auch mitunter bei Untersuchung von verschiedenen Personengruppen festzustellen. In Versuch II wurde eine Personengruppe mit einer bei 56° während einer Stunde sterilisierten Vakzine immunisiert; im Versuche I wurde der analog sterilisierten Vakzine 0,5 Proz. Phenol beigesetzt; dieselbe war außerdem sensibilisiert. Eine derartige Summierung mehrerer, auf den Impfstoff einwirkender Faktoren muß die Ergebnisse nachteilig beeinflussen. In Uebereinstimmung mit dieser Ueberlegung sehen wir, daß die Resultate im Versuch I weit schlechter sind als in II.



Kurve 7.

Der Formalinimpfstoff hat in den Versuchen I und II fast identische Resultate ergeben, obwohl die beiden Versuche zu verschiedenen Zeiten mit 2 formalinisierten Vakzinen ausgeführt wurden. Der Unterschied zwischen diesen Resultaten ist ein so geringer, daß, wenn wir die mittels verschiedener Impfstoffe erhaltenen Ergebnisse zusammenstellen, es sich zeigt, daß die 2 einander am meisten genäherten Resultate eben von diesen 2, auf gleiche Weise bereiteten Vakzinen herrühren.

Versuch III.

Agglutination bei den mit einzelnen Stämmen immunisierten Personen.

Zum Vergleich dienten 4 Stämme: Der 1. derselben war aus dem Stuhle eines Rekonvaleszenten mehrere Monate nach überstandenem Typhus abdominalis gezüchtet. Der 2. war frisch isoliert aus dem Blute eines gegen Typhus geimpften Patienten, der 3 Monate darauf an Typhus abdominalis erkrankte, mit ziemlich schwerem Verlauf und einem Rückfall (1). Der 3. war ein Museumsstamm, der seit 2 Jahren jeden Monat auf schrägen Agar abgeimpft wurde, und der 4. war ein 10-jähriger, analog dem vorigen abgeimpfter Museumsstamm.

Die aus diesen Stämmen bereiteten Impfstoffe wurden mit 1 Proz. Phenolzusatz sterilisiert und auf denselben Bakterientiter reduziert.

---

1) Ein ziemlich seltener Fall, denn sonst pflegt der Typhus abdominalis bei den Immunisierten äußerst selten vorzukommen, hat gewöhnlich einen leichten Verlauf, und aus dem Blute solcher Patienten können keine Kulturen gezüchtet werden.

Tabelle IX.

Nach der Umrechnung der erhaltenen Resultate auf Prozent.

Stamm	Prozent der Geimpften, deren Blut agglutiniert in:											Zahl der untersuchten Fälle
	1 : 600	1 : 800	1 : 1200	1 : 1600	1 : 2400	1 : 3200	1 : 4800	1 : 6400	1 : 9600	1 : 12 800	1 : 19 200	
I. vom Rekonvaleszenten	88,8	88 8	88,8	88,8	66,6	66,6	44,4	33,3	33,3	22,2	11,1	9
II. vom Blute eines Typh.-Geimpft.	99,0	99,0	99,0	92,4	72,6	52,8	39,6	26,4	19,8	13,2	0	15
III. 2-jähriger Museumstamm	99,6	99,6	99,6	91,3	83,0	83,0	74,7	33,2	24,9	16,6	0	12
IV. 10-jähriger Museumstamm	85,2	78,1	78,1	63 9	63,9	27,4	28,4	14,2	7,1	0	0	14

Die ersten 3 Stämme lieferten sehr wenig verschiedene Resultate, so daß es kaum möglich ist, anzudeuten, welcher von ihnen sich besser verhielt. Der 4. Stamm aber zeitigte ein unzweideutig schlechteres Ergebnis; trotz der ziemlich großen Zahl der geimpften Personen, war keine einzige unter ihnen, die bei den Verdünnungen 1:19200 und 1:12800 agglutiniert hätte, und bloß eine einzige, die dies bei der Verdünnung von 1:9600 tat. Auch in den anderen Verdünnungen blieb dieser Stamm stark hinter anderen zurück.

Die vorgeführten Versuche zeigen, daß die Herkunft des Stammes von keiner beträchtlichen Bedeutung ist, und erst eine sehr lange Zucht in künstlichen Nährböden dessen Agglutininbildungsvermögen herabsetzt.

Alle diese Typhusstämme habe ich auf die Agglutination mit hochwertigem Typhusserum hin untersucht. Am höchsten hat der 10-jährige Musealstamm reagiert; er agglutinierte noch in der Verdünnung von 1:19200, während andere nicht über 1:12800 hinausgekommen sind. Da ich über mehrere, von verschiedenen einzelnen Typhusstämmen gewonnene Sera verfügte, so benutzte ich diese Gelegenheit, um zu erforschen, auf welche Weise dieselben mit ihrem eigenen und mit fremden Stämmen agglutinieren. Zu diesem Zwecke wählte ich 4, von 4 verschiedenen Stämmen erhaltenen Sera und führte die Agglutination eines jeden Serums mit einem jeden Stamme aus. Die Sera gaben die höchsten Agglutinationen mit ihrem eigenen (homologen) und mit dem 10-jährigen Stamme; ein Serum agglutinierte mit diesem alten Museumsstamme höher als mit dem eigenen. Dies zeigt, daß der besprochene Stamm nicht allein mit dem Pferdetyphusserum, sondern auch mit den menschlichen Sera höher als die übrigen agglutiniert; wie früher erwähnt, hat dieser Stamm im Blute der damit geimpften Personen die niedrigsten Agglutinationen ergeben. Dies zeigt, daß das Agglutinationsvermögen und die Agglutininbildung im Blute von einzelnen Typhusstämmen nicht parallel geht.

Wir kennen aus der Literatur einen interessanten Versuch von **Ferrara** 1909, der seinen 2 Kaninchen gleiche Mengen von Typhusbakterien eingeimpft hat, die 2 verschiedenen Stämmen entnommen waren. Im ersten Falle war es ein alter Museumstamm, im anderen entnahm **Ferrara** die Bakterien aus dem Peritoneum eines an Typhus frisch gefallenen Tieres; der Immunisationseffekt war im letzten Falle viel größer. **Clark** (10) kommt zur Ueberzeugung, daß die Menge der Opsonine nach einer

Typhusimpfung von der Rasse und Giftigkeit des Stammes abhängig ist. Babes (3) behauptet 1914, daß es Cholerastämme gibt, die eine starke Reaktion hervorrufen, und solche, die, ohne die Reaktion zu provozieren, die Immunität schnell herbeizuführen imstande sind.

Versuch IV.

Wie rasch erfolgt die Bildung der Agglutinine nach der Typhusschutzimpfung?

Es wurden diesbezüglich 3 Personen in Zeitabschnitten von 2 Tagen untersucht. Die erste von ihnen war 1mal, 2 andere 2mal gegen Typhus geimpft.

Tabelle X.

	Agglutin. vor der Impfung	Agglutination nach der Impfung								
		2	4	6	8	10	12	14	16	
						Tage				
I	1:60	1:80	1:120	1:480	1:3000	1:5000	1:8000	1:4000	1:2000	Einmal geimpft
II	1:80	1:160	1:246	1:240	1:320	1:640	1:640	1:800	1:1250	Zweimal geimpft die 2. Impfung am 7. Tage
III	1:60	1:60	1:80	1:160	1:800	1:1500	1:6000	1:10000		dgl.

Bei 2 Personen konnte am 2. Tage nach der Impfung eine Steigerung der Agglutination bemerkt werden; die 3. dagegen, die nach der 1. Injektion überhaupt schwach reagierte, zeigte eine merkbare Agglutinationserhöhung erst am 4. Tage. Bei der 1mal geimpften Person stieg die Agglutination in den ersten 6 Tagen nur verhältnismäßig langsam, dann aber von 1:480 bis 1:800 sehr rasch; am 12. Tage erreichte sie das Maximum, fiel dann plötzlich und betrug am 16. Tage 1:2000.

Sappington behauptet 1910, daß die Agglutination erst 7 Tage nach der Impfung erscheint. Russel hat nach 4 Tagen und Dreyfuss 1915 schon 24 Std. nach der Impfung deutliche Agglutinationsunterschiede bemerkt. Bei den 2mal Geimpften haben wir 24 Std. nach der Impfung kein Zurückgehen der Agglutinine festgestellt, sondern im Gegenteil eine Vergrößerung ihrer Menge.

Es entsteht nun von selbst die Frage, welche Beziehungen zwischen dem Erscheinen von Agglutininen im Blute nach stattgefundenen Schutzimpfungen und den übrigen spezifischen Körpern, wie Präzipitinen, Bakteriolysinen, Opsoninen, nebst den komplementbindenden Körpern bestehen; weiter, welcher Art die Verhältnisse zwischen den genannten Körpern und der Immunität des Organismus sind, der nach Schutzimpfungen zweifellos gegen Infektion weniger empfindlich geworden ist?

Balteano und Lupu schließen 1914, auf Grund ihrer Untersuchungen über die Serumreaktionen bei den Menschen nach der Impfung, daß die graphischen Kurven der Agglutinine, Präzipitine, Bakteriolysine und der Komplement bindenden Körper ähnlich verlaufen, so daß man berechtigt ist, aus dem Verhalten der einen Substanzen auf die anderen wenigstens annähernd zu schließen. Dasselbe betont Konradi 1916. Wassermann und Sommerfeld behaupten 1915, daß eine enge Abhängigkeit zwischen dem Vorhandensein der bakterientötenden Substanzen und der Durchlässigkeit der Darmmembranen für Typhusbakterien existiert.

Wenn also das Erscheinen von Agglutininen gewissermaßen zugunsten einer Immunisierung des Organismus spricht, so kann die mittels der gegebenen Vakzine erhaltene Agglutinationshöhe als Beweis von deren Immunisierungsvermögen dienen. Somit wäre die Forschung

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

nach Impfstoffen, die die höchsten Agglutinationen zu provozieren vermögen, von gewisser Bedeutung.

Die Ergebnisse meiner vorliegenden Arbeit kurz zusammenfassend, gelangen wir zu folgenden Schlüssen:

1) Trotz der großen persönlichen Unterschiede läßt sich der Einfluß der Art und Weise der Impfstoffvorbereitung auf die Agglutinationshöhe deutlich erkennen, wenn man nicht einzelne Individuen, sondern genügend große Personengruppen in Betracht zieht.

2) Beim Vorbereiten des Impfstoffes muß die Individualität des Krankheitserregers berücksichtigt werden. Die Mittel, die sich für die Typhusbakterien als vorzüglich erwiesen haben (Chloroform, Formalin), wirken bei den Choleravibrionen durchweg nachteilig.

3) Die Anwendung einer durch Erwärmen allein sterilisierten Vakzine muß, mit Rücksicht auf deren leichte Verunreinigung, eine bebeschränkte bleiben. Eine so bereitete Vakzine bedarf zu ihrer Konservierung eines Zusatzes von Desinfektionsmitteln, der an und für sich zur Sterilisierung des Impfstoffes vollkommen ausreichend wäre; angesichts dessen wird dessen Erwärmen überflüssig.

4) Das Glyzerin kann zur Abtötung der Choleravakzine, nicht aber zu ihrer Konservierung, Anwendung finden.

5) Mit zunehmender Temperatur, bei der die Choleravakzine sterilisiert wird, sinkt die Zahl der Agglutinine im Blute der damit Immunisierten.

6) Die Agglutination nach der zum 2. Male ausgeführten Choleraimpfung ist nicht größer als nach der erstmaligen Impfung; nach 6 Monaten, ähnlich wie nach der 1. Impfung, verschwinden die Agglutinine fast spurlos aus dem Blute.

7) Der sensibilisierte Typhusimpfstoff lieferte keine schlechteren Resultate als der nicht sensibilisierte.

8) Aus einzelnen Bakterienstämmen bereitete Typhusimpfstoffe ergaben gleiche Resultate, nur ein sehr alter Museumsimpfstoff schlechtere[1]).

Literaturverzeichnis.

1) Aaser, Berlin. klin. Wochenschr. 1914.
2) Balteano et Lupa, Compt. rend. Soc. Biol. 1914; zit. nach Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. 1915.
3) Babes, Zeitschr. f. Hyg. 1914.
4) Bertarelli, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. 1905.
5) Bessau, Berlin. klin. Wochenschr. 1912.
6) de Blasi, Ann. d'Ig. sperim. 1903; zit. nach Kolle u. Wassermann.
7) Bujwid, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. 1916.
8) Ceritto, Ann. d'Ig. sperim. 1904; zit. nach Kolle u. Wassermann.
9) Chantemesse, Compt. rend. Soc. Biol. 1913; zit. nach Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 58.
10) Clark, Journ. Americ. med. Assoc. Vol. 47; zit. nach Jahresber. f. Immunitätsforschung 1912.

---

[1]) Es ist mir eine angenehme Pflicht, an dieser Stelle meinem Chef, Herrn Prof. O. Bujwid, für sein dauerndes Interesse sowie auch meiner Frau für ihren unermüdlichen Beistand meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

11) Dreyfuss, Inaug.-Dissert. Frankfurt a. M. 1915.
12) Dünner, Berlin. klin. Wochenschr. 1915.
13) Ferrara, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. 1909.
14) Friedberger, Leyden-Festschrift. 1902.
15) — u. Moreschi, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. 1905.
16) Hoffmann, Hyg. Rundsch. 1902.
17) Karwacki, Zeitschr. f. Hyg. 1906.
18) Konradi, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. 1916.
19) Leishman, Harrison, Smallman, Fulloch, Journ. of Hyg.; zit. nach Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. 1906.
20) Lewy u. Bruch, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. 1913.
21) Löwy, O., Deutsch. med. Wochenschr. 1915.
22) Maverick, Journ. Amer. med. Assoc. 1912; zit. nach Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 54.
23) Metschnikoff et Besredka, Ann. de l'Instit. Past. 1911.
24) Negri, Compt. rend. Soc. Biol. 1913; zit. nach Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 60.
25) Nijland, Janus. 1911; zit. nach Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 50.
26) Pfeiffer u. Marx, Deutsch. med. Wochenschr. 1898.
27) — u. Kolle, Deutsch. med. Wochenschr. 1896.
28) Reiter u. Silberstein, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 1915.
29) Russel, Boston med. and surg. Journ. 1911; zit. nach Centralbl. f. Bak. Abt. I. Ref. Bd. 50.
30) Sappington, Journ. of med. Res.; zit. nach Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 48.
31) Schmitz, Zeitschr. f. Hyg. 1906.
32) Serkowski, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. 1906.
33) Wassermann u. Sommerfeld, Med. Klin. 1915.
34) Vincent, Compt. rend. Soc. Biol. 1913; zit. nach Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 58.
35) — Compt. rend. de l'Acad. d. Scienc. 1915; zit. nach München. med. Wochenschrift 1915.

Nachdruck verboten.

Ueber Mitagglutination bei Cholera.

Beitrag zur Diagnose der Cholera.

[Aus dem Serotherapeutischen Institut von Prof. O. Bujwid in Krakau und dem Städtischen Bakteriologischen Laboratorium in Warschau.]

Von Dr. **Stanisław Sierakowski,** Warschau.

Die Untersuchung und Identifizierung der Cholera ist seit Koch auf zahlreiche Schwierigkeiten gestoßen. Eine ganze Reihe von Kennzeichen, die anfänglich als für die Cholera charakteristisch gegolten haben (Morphologie der Bakterien, Aussehen der Kolonien in Gelatine und auf Agar, Indolreaktion, hämolytische Eigenschaften), stellten sich nachträglich heraus als nicht allein für die Cholera spezifisch, sondern auch für eine ganze Reihe von sogenannten choleraähnlichen Vibrionen. Erst nach der Entdeckung der Pfeifferschen Reaktion und der Agglutination hat die Identifizierung der Cholera festeren Boden gefaßt und ist eine der wichtigsten Methoden geworden.

Bei Untersuchung der Cholera vermittels dieser Reaktion kamen Gruber und Durham (11) 1895, sowie nachträglich Pfeiffer und Kolle (17) zu der Ueberzeugung, daß die Agglutination für Cholera absolut spezifisch ist. Eine Ausnahme hiervon machte nur der von Neisser isolierte Vibrio Berolinensis. Der Vibrio Berolinensis agglutinierte mit Choleraserum, trotzdem er nicht alle Kennzeichen von

Cholera zeigte. Kolle und Gotschlich (13), deren klassische Arbeiten die Ansicht über die Spezifität der Agglutination bei der Cholera in der Wissenschaft begründet haben, halten aber den Vibrio Berolinensis für echte Cholera.

Diese Ansicht über die Spezifität der Agglutination wird auch durch die Forschungen von Prausnitz (18) bestätigt, der gegen 125 choleraähnliche Vibrionen untersuchte, von denen aber keiner mit hochwertigem Choleraserum agglutinierte.

Gotschlich (10) isolierte 1906 den Vibrio El-Tor, der sämtliche Serumreaktionen der Cholera provozierte, dabei aber von dieser in bezug auf Erzeugung von löslichem Virus in frischen Kulturen und von Hämolysinen verschieden war; doch erkannte man dabei, daß die Differenzen zwischen dem El-Tor und der Cholera nur quantitative, nicht aber qualitative seien.

In demselben Jahre veröffentlichte Karwacki (12) eine Arbeit, in der er einige choleraähnliche Vibrionen beschrieb, welche mit Choleraserum ziemlich hoch agglutinierten, ohne jedoch die Pfeiffersche Reaktion zu geben. Karwacki war daher der Meinung, daß die Identifizierung der Cholera nicht ausschließlich auf Agglutination beruhe.

Unter den zahlreichen Vibrionen, die ich während der Choleraepidemie 1914—1915 isolierte, befanden sich einige, welche mit hochwertigem Choleraserum fast bis zum Titer agglutinierten, jedoch nach näherer Untersuchung mit der Cholera nicht identifiziert werden konnten.

Zur Entdeckung dieser agglutinierenden, choleraähnlichen Vibrionen hat unzweifelhaft die Methode beigetragen, der ich mich bei meinen Untersuchungen bediente. Dieselbe besteht in folgendem: Die Plattenkolonien untersuche ich mittels einer orientierenden Agglutination auf einem Objektträger in einem Tropfen entsprechenden Serums (nach dem von Prof. O. Bujwid angewendeten Verfahren). Bei einer Verdünnung des hochagglutinierenden Choleraserum von 1:100—1:1000 kommt die Agglutination mit der Cholerakolonie sofort zustande.

In dem besprochenen Verfahren ist die Agglutination die erste Differenzierungsmethode; sie wird sozusagen zum ersten Filter, durch den die untersuchten Bakterien durchgelassen werden.

Der erste solcher Stämme war der aus dem Weichselwasser bei Krakau isolierte Vibrio 977; er agglutinierte mit einem Choleraserum, dessen Titer 1:12800 betrug, in der Verdünnung 1:6400. Mit Normalserum gab dieser Stamm die höchste Agglutination bei einer Verdünnung von 1:200.

1) Mikroskopisch zeigte dieser Vibrio eine mit dem Choleravibrio identische Gestalt; auch seine Agarkolonien glichen täuschend den Cholerakolonien, nur waren sie etwas kleiner; die Indolreaktion war eine positive. Bei weiteren Untersuchungen säte ich diesen Stamm auf Gelatine aus, und habe wahrgenommen, daß er dieselbe auch nach 2 Monaten nicht verflüssigte. (Prüfungshalber habe ich das nämliche Probierglas, welches die von diesem Stamm nicht verflüssigte Gelatine enthielt, mit echten Choleravibrionen beimpft; die Gelatine wurde danach in typischer Weise verflüssigt.) Das Nichtverflüssigen der Gelatine ließ gewissermaßen bezweifeln, ob der untersuchte Stamm die Cholera sei; zugleich aber konnte dieser Umstand keinesfalls als Gegenbeweis dienen, da bereits Befunde von Cholerastämmen vorlagen, welche Gelatine nicht verflüssigen [Kolle und Schürmann (14)]. Zlatogoroff (21) isolierte 1911 aus den Fäzes mehrere, Gelatine nicht verflüssigenden Cholerastämme, wobei noch ein weiterer Unterschied von den typischen Choleravibrionen festgestellt werden konnte; der für die frische Cholera-Agarkultur so sehr charakteristische Geruch hatte nämlich bei diesem Vibrio eine Beimischung von Fäulnisgeruch.

2) Der kurz darauf aus dem Weichselwasser oberhalb Krakau isolierte Vibrio 1004 gab eine ebenso bedeutende Agglutination ausschließlich mit Choleraserum. In morphologischer Beziehung zeigte er keinen Unterschied von dem Choleravibrio; seine Agarkolonien glichen denjenigen des letzteren, nur waren sie weniger durchsichtig. Indes konnte auch dieser Umstand nicht als Beweis gelten, daß ich es mit keinem Cholerastamme zu tun hatte, da die Cholera mitunter auf Agar dunkle Kolonien erzeugt. Während der Epidemie von 1914—1915 beobachtete ich einen Cholerastamm, der auf den mit Fäzes besäten Alkaliagarplatten undurchsichtige, den Coli-Bazillen ähnliche Kolonien bildete. Dergleichen Befunde sind bereits von Kolle (15) und Baerthlein (2) angegeben worden.

Der Vibrio 1004 rief eine starke Indolreaktion hervor und verflüssigte Gelatine sehr rasch, zeigte also dadurch sich vom Vibrio 977 verschieden.

3) Der Vibrio 1012 wurde ebenfalls aus Weichselwasser isoliert; er zeigte morphologisch keinen Unterschied vom Choleravibrio. Auf Agar erzeugte er große, glatte Kolonien, die etwas weniger durchsichtig waren als die Cholera. Mit Choleraserum agglutinierte er schwächer als die vorher besprochenen Stämme. Er führte weder Indolreaktion (zum Unterschied vom Vibrio 977), noch Gelatineverflüssigung herbei.

4) Der Vibrio 1103 war nicht im Weichselwasser, sondern im Stuhle eines Cholerarekonvaleszenten gefunden worden, dessen Fäzes ich 3mal untersucht habe; die erwähnten Bakterien isolierte ich bei der 2. Untersuchung.

Erst einige Monate nach der Isolierung konnte ich diesen Stamm eingehender untersuchen. In morphologischer Beziehung zeigte er große Aehnlichkeit mit dem alten Museums-Cholerastamme; die Vibrionen waren langgezogen, schwach gekrümmt und im Verhältnis zu ihrer Länge ziemlich dünn. Auf Agar erzeugte dieser Vibrio kleine, glattrandige Kolonien mit ebener Oberfläche, etwas weniger durchsichtig als die Cholerakolonien. Er gab weder Indolreaktion, noch Gelatineverflüssigung.

Ich züchtete diesen Stamm aus 2 abgesonderten, als 1103a und 1103b bezeichneten Kolonien, die sich nur durch die Agglutinationshöhe mit dem Choleraserum voneinander unterschieden.

5) V. 1131. Der aus dem Weichselwasser isolierte Vibrio 1131 agglutinierte mit Choleraserum bei einer Verdünnung von 1 : 6400 (Serumtiter 1 : 12800). Einige Monate nach seiner Isolierung wurde er genauer untersucht und zeigte zu dieser Zeit dieselben Eigenschaften wie der vorherige.

6) V. 1252. Der Fundort des Vibrio 1252 war die Weichsel bei Krakau, unterhalb der Mündung der Hauptabwässerkollektoren. Dieser Stamm agglutinierte mit Choleraserum in einer Verdünnung von 1 : 6400 (der Serumtiter betrug 1 : 24000). Gelatine verflüssigte er nicht; von Indolreaktion waren bloß Spuren vorhanden.

7) V. 945. Der Vibrio 945 ist in Warschau aus einem Brunnen in der Vorstadt Pelcowizna isoliert worden. In morphologischer Beziehung, sowie auch hinsichtlich seines Verhaltens in Gelatine und auf Agar zeigte dieser Stamm denjenigen des Vibrio 1131 analoge Eigenschaften.

Was nun die übrigen Eigenschaften dieser Bakterien betrifft, so habe ich noch deren hämolytisches Vermögen untersucht, indem ich zu diesem Zwecke einen schwach alkalischen Agar mit Zusatz von 10 Proz.

frisch defibriniertem Hammelblut benutzte. Keiner der isolierten Vibrionen rief Hämolyse, selbst nach 48 Stunden bei einer Temperatur von 36°, hervor.

Die isolierten Vibrionen sind sehr schwach virulent für Meerschweinchen, vollkommen avirulent aber für Tauben. Sie vergärten weder Traubenzucker noch Laktose oder Mannit. Die nach dem Verfahren von Gil Cesarès (9) ausgeführte Ziliaruntersuchung ließ bei den Vibrionen 977, 1004 und 1012 je eine einzige Geißel nachweisen; sie zeigen also in dieser Hinsicht keinen Unterschied gegenüber den Choleravibrionen.

Nachträglich habe ich diese Vibrionen beinahe 2 Jahre auf künstliche Nährböden abgeimpft. Während dieses Zeitraumes haben sie einige ihrer Eigenschaften modifiziert: der Stamm 977 hörte auf, die Indolreaktion zu geben, und der Stamm 1004, Gelatine zu verflüssigen; die anfänglich recht starke Indolreaktion ist ebenfalls verschwunden, dagegen haben die in Rede stehenden Vibrionen ihr Agglutinationsvermögen dem Choleraserum gegenüber völlig erhalten.

Die Agglutination pflegt aber bei den agglutinierenden choleraähnlichen Vibrionen nicht immer eine so konstante zu sein. Es ist mir nämlich gelungen, 2 Stämme von choleraähnlichen Vibrionen zu isolieren, deren morphologische Eigenschaften und Verhalten in den Kulturen mit

Tabelle I.

No. des Stammes	Datum der Isolierung	Fundort	Morphologie	Cilien	Aussehen der Kolonien auf dem Agar	Verflüssigung der Gelatine	Hämolytisches Vermögen	Zuckervergärung, Traubenzucker, Milchzucker, Mannit	Virulenz für Meerschweinchen	Virulenz für Tauben	Indolreaktion
977	8. 7. 15	Weichsel bei Krakau	wie die Cholera	1	der Cholera analog, weniger durchsichtig	verflüssigt nicht	fehlt	keine	gering	avirul.	positiv
1004	20. 7. 15	dgl.	dgl.	1	dgl.	verflüss.	”	”	”	”	”
1012	28. 7. 15	”	”	—	”	verflüssigt nicht	”	”	”	—	negativ
1103	7. 8. 15	Stuhl eines Cholerarekonvaleszenten	”	1	”	dgl.	”	”	—	”	”
1131	8. 8. 15	Weichsel bei Krakau	”	—	”	”	”	”	—	—	”
1252	3. 9. 15	dgl.	”	—	”	”	”	”	gering		schwach positiv
349	16	Brunnen in Pelcowizna bei Warschau	”	—	”	”	”	”	—	—	negativ

den entsprechenden Kennzeichen der Cholera identisch waren. Dieselben gaben eine ziemlich hohe Agglutination mit dem im Institut von Prof. Odo Bujwid und im Laboratorium der Warschauer Gesellschaft der Wissenschaften hergestellten Choleraserum. Nach einigen Abimpfungen sank die Agglutination fast bis auf 0°, wogegen eine durch Formalin getötete Bakterienaufschwemmung, welche aus der 2. Generation dieser Bakterien bereitet und 1 Jahr lang aufbewahrt wurde, von ihrem Agglutinationsvermögen nichts eingebüßt hat.

Mit Choleraserum agglutinieren übrigens mitunter Bakterien, die mit der Cholera nichts gemein haben, wie z. B. die Coli-Bazillen. Einen solchen Stamm habe ich aus dem Stuhle eines Cholerarekonvaleszenten isoliert; er hat nach mehreren Abimpfungen sein Agglutinationsvermögen ganz verloren. Auch Messerschmidt (16) und Quadflieg (19) haben Stämme von B. coli beschrieben, die mit Choleraserum agglutinierten.

Zu den Vibrionen mit erhaltenem Agglutinationsvermögen zurückkehrend, sehen wir, daß deren morphologische Eigenschaften, das Verhalten in Nährböden und die Virulenz für Versuchstiere noch nicht zu der Annahme berechtigen, daß wir es mit keiner Cholera zu tun haben. Tabelle I gibt eine Uebersicht dieser Eigenschaften.

Angesicht solcher Resultate habe ich mich zu den bekannten Serumreaktionen gewendet. Vor allem war zu vermuten, daß diese Vibrionen ausschließlich mit dem Bujwidschen Choleraserum agglutinieren. Zu Kontrollzwecken habe ich daher die verfügbaren Cholerasera des Wiener Institutes, sowie auch des Serotherapeutischen Instituts der Warschauer Gesellschaft der Wissenschaften benutzt.

Tabelle II.

Stamm	Agglutination mit dem Choleraserum aus dem Serotherapeutischen Institute			Agglutination mit dem Normalpferdeserum (Kontrolle)
	von Prof. v. Bujwid	der Warschauer Wissensch. Ges.	aus Wien	
977	1:25 600 +	1: 6 400 +	1:1600 +	1:100 +
1004	1:25 600 +	1: 6 400 +	1: 800 +	1:200 +
1012	1: 3 200 +	1: 3 200 +	1: 400 +	1:100 —
1103	1: 6 400 +	1: 1 600 +	--	1:200 +
1131	1:51 000 +	1: 3 200 +	1:1600 +	1:100 +
1252	1: 1 600 +	1: 3 200 +	—	1:200 +
349	1:12 800 +	1: 3 200 +	—	1:200 —
Cholera	1:51 000 +	1:12 800 +	1:3200 +	1:100 —

Wie aus dieser Tabelle zu ersehen ist, agglutinieren die untersuchten Vibrionen nicht allein mit dem Bujwidschen Choleraserum, sondern auch mit den nämlichen Seris anderer Institute.

Nachträglich habe ich die in Rede stehenden Vibrionen mit einem durch Immunisierung eines Kaninchens mittels eines echten Cholerastammes gewonnenen Choleraserum agglutinieren lassen. Dieses Serum zeigte die höchste Agglutination mit Cholera in der Verdünnung von 1:6400 mit dem Stamm 977 und 1131 in der Verdünnung von 1:1600; mit den übrigen Stämmen agglutinierte es gar nicht. Wir sehen also, daß das Pferde-Choleraserum mit sämtlichen untersuchten Vibrionen agglutiniert, wogegen das Kaninchen-Choleraserum es nur mit 2 derselben tut, und dazu verhältnismäßig schwach.

In weiterer Folge führte ich mit den untersuchten Vibrionen eine Komplement-Ablenkungsreaktion aus. Bordet und Gengou (5), ferner de Besche und Kohn (3) sowie Bocchia (4) waren die ersten, welche diese Reaktion angewendet haben, um den Choleravibrio von den anderen Vibrionen zu unterscheiden. Als Antigen habe ich bei dieser Reaktion eine Aufschwemmung der untersuchten Vibrionen angewendet, die in 1 ccm 10 mg enthielt (Titrierung nach der Methode von Bujwid); diese Aufschwemmung versetzte ich mit 2 Proz. Antiformin und erwärmte sie bis 100° C. Unter dem Einflusse des Antiformins wurden die Bakterien gelöst; den Alkaliüberschuß neutralisierte ich mit 5 Proz. Schwefelsäurelösung, den Chlorrest mit Natriumsulfit [Verfahren von Altmann und Schultz (1)]. Als Antikörper benutzte ich das Choleraserum von Prof. O. Bujwid (6), als Komplement dagegen das Serum eines Meerschweinchens in der Verdünnung von 1:10, den das Hammelblut hämolysierenden Ambozeptor in 3-facher Menge und endlich 5-proz. sorgfältigst gewaschener Hammelblutkörperchen.

Zu den Versuchen wurde eine konstante Menge von Choleraserum in einer Verdünnung von 1:10 genommen nebst einer inkonstanten Antigenmenge in Verdünnungen von 1:1, 1:2, 1:4 usw. So untersuchte ich die Vibrionen 977, 1004, 1012 und 1131, sowie auch den Choleravibrio für Kontrollzwecke). Ich erhielt dabei folgende Resultate: Die Antigene von einzelnen Vibrionen ohne Serumgehalt, sowie auch nach Zusatz von Normalserum, bewirken keine Komplementablenkung (Kontrolle); nach Zusatz von Choleraserum findet aber diese Ablenkung statt mit der Cholera bei einer Verdünnung des Antigens von 1:128, mit dem Stamme 977 bei einer Verdünnung von 1:16 und mit 1131 in der Verdünnung von 1:4; die übrigen Vibrionen üben keine Komplementablenkung aus.

Angesichts dessen wäre anzunehmen, daß außer den Choleravibrionen die beschriebene Reaktion vom Vibrio 977 und spurenweise auch vom Vibrio 1131 herbeigeführt wird.

Zum 2. Mal habe ich diese Reaktion unter ganz anderen Bedingungen ausgeführt. Das Antigen wurde aus einer 18-stündigen Kultur einzelner Stämme bereitet. Die Aufschwemmung derselben habe ich so hergestellt, daß sie in 1 ccm Bakterien 10 mg enthielt; darauf sterilisierte ich dieselbe durch Erwärmen bis 56° C während 1 Std., ließ sie 36 Std. in der Schüttelmaschine schütteln und zentrifugierte sodann kräftig. Als Antigen benutzte ich die leicht opalisierende Flüssigkeit oberhalb des Bodensatzes (Verfahren von de Besche und Kohn (3). Im Gegensatz zum Versuch I, wendete ich eine konstante Quantität von Antigen an, dafür aber eine wechselnde Menge von Choleraserum.

Ungeachtet der so stark geänderten Verhältnisse, in denen der Versuch 2 ausgeführt wurde, erhielt ich ganz analoge Resultate. Außer der Cholera, hat nur der Stamm 977 eine Komplementablenkung bewirkt, wobei in diesem Versuche der Unterschied zwischen der Cholera und diesem Stamme ein weit geringerer gewesen ist, da die Cholera am stärksten bei einer Serumverdünnung von 1:500 die Hämolyse hemmt, der Stamm 977 dagegen bei 1:400. Der Stamm 1131, welcher bei dem früheren Verfahren Hemmungsspuren zeigte, hat diesmal, gleich den übrigen Vibrionen, diese Reaktion nicht hervorgerufen. Ich darf daher behaupten, daß von sämtlichen untersuchten Vibrionen nur der Stamm 977 die Komplementablenkung gibt, die übrigen dagegen nicht. Somit zeichnet sich der Stamm 977 dadurch aus, daß er: 1) mit Kaninchen-

Choleraserum agglutiniert, und 2) mit dem Choleraserum eine Komplementablenkung zustande kommen läßt.

Meine Untersuchungen fortsetzend, habe ich mit den Vibrionen die Pfeiffersche Probe vorgenommen. Vor allem habe ich ein zu diesem Zweck speziell bereitetes Choleraserum gewonnen mittels intraperitonealer Einimpfung eines Kaninchens mit progressiv zunehmenden Choleramengen. Nach mehreren Impfungen betrug der bakteriolytische Titer des so gewonnenen Serums 5000. Die Pfeiffersche Reaktion nahm ich vor mit 2 der Cholera am nächsten stehenden Vibrionen, und zwar mit dem Stamm 977 und 1104. Bei der Ausführung dieses Versuches hatte ich einige Schwierigkeiten zu überwinden, da diese Vibrionen für Meerschweinchen sehr schwach virulent sind. Dieses Hindernis suchte ich zu beseitigen, indem ich 1) die den Meerschweinchen intraperitoneal injizierten Dosen vergrößerte, doch nur bis zu einer gewissen Grenze, da die Tiere bei starken Dosen, trotz der Bakteriolyse, infolge von Intoxikation mit Endotoxinen fallen; 2) zu den Versuchen möglichst junge, für die untersuchten Vibrionen stärker empfindliche Meerschweinchen wählte (von 100—120 g Gewicht).

Dieser Versuch ergab folgende Resultate: Das vom Kaninchen gewonnene bakteriolytische Choleraserum löst die Vibrionen 977 und 1004 im Bauchfellraum des Meerschweinchens nicht, sogar wenn es in einer Dosis injiziert wird, welche die zur Lösung von Cholera erforderliche 10-fach übersteigt. Ganz identische Versuche führte ich mit dem Choleraserum eines Pferdes aus, mit dem diese Vibrionen hoch agglutinierten. Auch in diesem Falle habe ich keine Bakteriolyse wahrgenommen.

Daraus folgt, daß die der Cholera am nächsten verwandten Stämme 977 und 1004 keine Pfeiffersche Reaktion geben. Eigentlich wäre dies der erste Beweis, daß der Vibrio 977 kein Choleravibrio ist; der Stamm 1004 gibt außerdem keine Komplementablenkung und agglutiniert nicht mit Kaninchen-Choleraserum.

Zur näheren Bestimmung der untersuchten Vibrionen habe ich nachträglich ein Kaninchen mit dem Stamme 977 und ein 2. mit 1004 immunisiert. Das mittels des Vibrio 977 gewonnene Serum, das ich kurz als Serum 977 bezeichne, gab mit dem Stamme 977 die höchste Agglutination in der Verdünnung von 1:12800. Dieses Serum agglutinierte weder mit der Cholera noch mit den übrigen Vibrionen.

Das auf ähnliche Weise erhaltene Serum 1004 agglutiniert mit dem Stamme 1004 in einer Verdünnung von 1:1600; mit Cholera agglutiniert es aber nicht, ähnlich wie 977, dagegen geht diese Reaktion fast bis zum Titer ein mit 3 der untersuchten Vibrionen, nämlich mit den Stämmen 1103, 1141 und 349, welche somit zu einer Gruppe gehören. Die Vibrionen 1004 und 1131 wurden aus Weichselwasser bei Krakau isoliert, die Vibrionen 1103 aus dem Stuhle eines Cholerarekonvaleszenten, der Vibrio 349 aus einem Brunnen in Pelcowizna bei Warschau. Diese so verschiedenen Fundorte zeugen von einer ziemlich starken Verbreitung dieser Vibrionenart in der Natur.

Von den 7 beschriebenen Bakterienarten bleiben nur 2, die Stämme 1012 und 1252, die weder mit dem Serum 977, noch mit 1004 agglutinieren. Um bestimmen zu können, ob dieselben zu einer oder zu verschiedenen Gruppen gehören, habe ich ein Kaninchen mit dem Stamme 1012 immunisiert. Das Serum 1012 agglutiniert mit seinem eigenen Stamme und 1252 bei einer Verdünnung von 1:25000, die Cholera hingegen, sowie die übrigen Vibrionen, geben keine Aggluti-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

nation mit diesem Serum. Die Vibrionen 1012 und 1252 gehören also zu einer Gruppe; beide sind aus Weichselwasser in der Nähe von Krakau isoliert worden.

Ihrem Agglutinationsvermögen nach lassen sich also die 7 Vibrionenarten in 3 Gruppen teilen: zur ersten derselben gehört 1 Stamm: 977, zur zweiten 4: 1004, 1131, 1103 und 349; zur dritten endlich 2: 1012 und 1252.

Diese Einteilung in 3 Gruppen hat sich schon früher geltend gemacht: der Vibrio 977 war von den übrigen dadurch verschieden, daß er Komplementablenkung bewirkte; die 4 zur 2. Gruppe gehörenden Vibrionen agglutinieren hochgradig mit Choleraserum, wogegen die 2 übrigen bedeutend niedriger agglutinierten.

Den vorigen Versuchen ist gleichfalls zu entnehmen, daß die durch Immunisierung des Kaninchens mit den untersuchten Stämmen gewonnenen Sera mit der Cholera nicht agglutinieren; dies beweist, daß diese Stämme keine Choleravibrionen sind. Bei Erforschung der Modifikationen, denen die längere Zeit hindurch in Wasser gezüchteten Choleravibrionen unterliegen, gelangte Stamm (20) zur Ueberzeugung, daß deren konstanteste, niemals ausbleibende Eigenschaft ihr Vermögen ist, Agglutinine für den typischen Cholerastamm zu erzeugen.

Bei Zusammenstellung der mit Hilfe von Serumreaktionen erhaltenen Resultate kommen wir zu folgenden Schlüssen:

1) Sämtliche beschriebenen Vibrionen agglutinieren mit dem Pferdecholeraserum. 2) Mit dem Kaninchencholeraserum agglutinieren 2 Vibrionen: 977 und 1131. 3) Die Komplementablenkung gibt nur Vibrio 977. 4) Keiner von diesen Stämmen gibt die Pfeiffersche Reaktion. 5) Die mittels der untersuchten Vibrionen gewonnenen Sera agglutinieren nicht mit Cholera.

Absorptionsversuche.

Absorptionsversuche führte ich aus, indem ich eine bestimmte Menge entsprechend verdünnten Choleraserums mit einer bestimmten Menge entsprechender Bakterien versetzte, die Mischung 2—3 Stunden im Brutofen stehen ließ und sie nachträglich bis zum 2. Tage im Eisschrank hielt.

Nach kräftigem Zentrifugieren untersuchte ich die Flüssigkeit oberhalb des Bodensatzes auf Agglutination hin. Dabei habe ich jedesmal folgenden Kontrollversuch vorgenommen: 1) mit Choleraserum (ohne Bakterienzusatz), welches in gleicher Verdünnung wie das der Absorption ausgesetzte Serum zunächst im Thermostat und darauf im Eisschrank gehalten wurde, um festzustellen, ob dieses Verfahren den Agglutinationsstiter des Serums nicht etwa beeinträchtigt; 2) die Kontrolle mit dem Normalserum zwecks Feststellung, inwiefern die Agglutination mit dem Choleraserum spezifisch ist, 3) mit physiologischer Kochsalzlösung.

Bei dergleichen Untersuchungen ist der Verdünnungsgrad des dazu benutzten Serums von größter Bedeutung, denn, wie die Forschungen von Eisenberg und Volk (8) nachgewiesen haben, sind die Bakterien, wenn man zur Absorption ein stark konzentriertes Serum verwendet (wenn auch beliebig große Mengen genommen), außerstande, sämtliche Agglutinine zu absorbieren; eine solche Totalabsorption tritt erst von einer bestimmten Serumverdünnung ab ein.

Diese Vorschriften befolgend, habe ich ein Pferdecholeraserum in der Verdünnung von 1 : 450 mit Cholerabakterien (18-stündige Agarkultur) beschickt, und zwar so, daß 1 ccm des derart verdünnten Serums 15 mg Bakterien enthielt. Unter solchen Bedingungen absorbieren die Cholerabakterien sämtliche im Serum enthaltenen Agglutinine, und die nach der Absorption zurückgebliebene Flüssigkeit agglutiniert weder mit Cholera, noch mit den untersuchten Vibrionen, obwohl die Agglutinationskontrolle mit dem Serum ohne Absorption positive Resultate ergibt. Die Cholera absorbiert also sämtliche im Choleraserum enthaltene Agglutinine. Zum Vergleich benutzte ich ebenfalls den Vibrio El-Tor; das Verhalten desselben bei diesem Versuche ist demjenigen anderer Vibrionen analog: die Cholera läßt für ihn keine Agglutinine übrig.

Der Umstand, daß die Cholera aus dem Choleraserum ihre „eigenen“ Agglutinine und diejenigen sämtlicher übriger Vibrionen absorbiert, läßt die Frage offen, welche derselben sie zuerst absorbiert, welchem sie die größte Affinität zeigt. Um dies zu bestimmen, habe ich das Choleraserum auf die Weise absorbiert, daß ich dessen einzelne Portionen in der üblichen Verdünnung von 1 : 450 mit abnehmenden Choleramengen versetzte und nach stattgefundener Absorption dieselben auf die Agglutination hin untersuchte.

Tabelle III.

Milgrmzahl d. f. Absorption 1 ccm Choleraserum in einer Verdünnung von 1 : 450 verbrauchten Cholera	Agglutination des Choleraserums nach der Absorption		
	mit der Cholera	mit 977	mit 1004
5 Mlgrm	1 : 1 000 +	1 : 500 —	1 : 500 —
2 „	1 : 1 000 +	1 : 500 —	1 : 500 —
1 „	1 : 2 009 +	1 : 500 —	1 : 500 —
0,5 „	1 : 2 000 +	1 : 500 +	1 : 500 —
0,2 „	1 : 4 000 +	1 : 4000 +	1 : 2000 +
0,1 „	1 : 8 000 +	1 : 8000 +	1 : 4000 +
Kontrolle des Choleraserums ohne Absorpt.	1 : 16 000 +	1 : 8000 +	1 : 8000 +

Nach Zusatz von 0,1 und 0,2 mg Cholera zu dem Choleraserum tritt die Absorption der Agglutinine bei der Cholera und bei den Vibrionen identisch auf; jedoch absorbieren bereits 0,5 mg Cholera fast sämtliche für die Vibrionen bestimmte Agglutinine, wogegen selbst 5 mg Cholera nicht imstande sind, sämtliche Agglutinine für die Cholera zu absorbieren. Diese Erscheinung dürfte einzig dadurch zu erklären sein, daß die Cholera gleich intensiv ihre „eigenen“ Agglutinine wie auch diejenigen der „untersuchten Vibrionen“ absorbiert; nur sind die ersteren in einer weit größeren Menge vorhanden. Anderweitige Forschungen zeigten, daß die Menge der Agglutinine für die Cholera die für einzelne Vibrionen bestimmte 20—40mal übersteigt; dabei ist deren Anzahl nicht für alle Stämme gleich, so z. B. ist sie für 977 bedeutend größer als für 1004 oder für 1012.

Nun entsteht die Frage, in welcher Weise das durch die untersuchten Vibrionen absorbierte Choleraserum agglutinieren wird? Zu ihrer Beantwortung versetzte ich verschiedene Portionen von Choleraserum mit einer Kultur von einzelnen Vibrionen, und zwar in einem solchen Verhältnis, daß 1 ccm des wie vorher verdünnten Serums 15 mg entsprechender Bakterien enthielt. Nach beendigter Absorption nahm ich die Agglutination mit der Cholera vor, sowie auch zwecks Kontrolle mit dem zur Absorption benutzten Vibrio.

Diese Versuche zeigen, daß das von einzelnen Vibrionen absorbierte Choleraserum mit der Cholera ganz ungeändert agglutiniert. Außerdem habe ich noch festgestellt, daß, selbst bei einer 10-fachen Verdünnung des Choleraserums, d. h. bei 1 : 4500 und bei doppelter Milligrammenzahl der zur Absorption benutzten Vibrionenagarkultur, die Cholerabakterien in der gleichen Weise agglutinieren wie mit einem Serum ohne Absorption.

Der zum Vergleich angewendete Vibrio El-Tor verhält sich ähnlich wie die Cholera: nachdem er das Choleraserum absorbiert hat, agglutiniert er mit demselben gar nicht; die Cholera aber agglutiniert mit diesem Serum nur in einer Verdünnung von 1 : 1000 (die Agglutination der Cholera mit dem Choleraserum, ohne Absorption, beträgt 1:16000); demnach ist die Absorption eine fast totale.

Aus den angeführten Versuchen erhellt, daß die untersuchten Vibrionen die für die Cholera bestimmten Agglutinine aus dem Choleraserum gar nicht absorbieren, wogegen die Cholera dies mit sämtlichen Agglutininen ausnahmslos tut.

Gestützt auf diese Absorptionsversuche, können wir ganz bestimmt feststellen, daß die beschriebenen Vibrionen keine Cholera sind und wir nunmehr einer Erscheinung von Mitagglutination gegenüberstehen, die zuerst von Castellani (7) beschrieben worden ist.

Demzufolge stellt diese Methode ein äußerst wichtiges diagnostisches Moment dar, welches zugleich sehr einfach ist.

Sind nun aber die für die Vibrionen bestimmten, im Choleraserum enthaltenen Agglutinine für sämtliche Stämme die gleichen? Gewisse Befunde scheinen dem zu widersprechen, unter anderem der Umstand, daß die Anzahl der Agglutinine für den Stamm 977 weit größer ist als für andere.

Um dies zu bestimmen, führte ich den folgenden Versuch aus: das Choleraserum in der Verdünnung von 1 : 450 absorbierte ich mittels eines bestimmten Vibrio (15 mg pro 1 ccm Serum) und beobachtete nach-

Tabelle IV.

Stamm	Agglutination mit dem Choleraserum nach der Absorption vermittels				Agglutination ohne Absorption (Kontr.)
	1004	977	1012	Cholera	
977	○	●	○	●	○
1004	●	○	○	●	○
1012	○	○	●	●	○
1103	●	○	○	●	○
1131	●	○	○	●	○
349	●	○	○	●	○
1252	○	○	●	●	○
El Tor	○	○	○	●	○
Cholera	○	○	○	●	○

● bedeutet Aufhören der Agglutination nach der Absorption
○ „ Anwesenheit der „ „ „ „

träglich, auf welche Weise die beschriebenen Vibrionen mit einem solchen Serum agglutinierten.

Es zeigte sich nun, daß das durch den Vibrio 1004 absorbierte Serum mit den Stämmen 977, 1012 und 1252 so agglutinierte, als ob es ganz ungeändert wäre, dagegen mit den Stämmen 1103, 1131 und 349, außer dem für die Absorption benutzten Vibrio 1004, keine Agglutinine erzeugte. Daraus folgt, daß der Vibrio 1004 nicht nur die für ihn bestimmten Agglutinine, sondern auch diejenigen der Stämme 1103, 1131 und 349 dem Choleraserum entnommen hat, wobei er die Agglutinine für 977, 1012, 1252 und für die Cholera unberührt ließ. Die Agglutinine für die Stämme 1004, 1103, 1131 und 349 gehören demnach zu einer und derselben Gruppe. Der zu Vergleichszwecken benutzte Vibrio El-Tor verhält sich wie die Cholera.

Ein ähnlicher, mit dem Vibrio 977 ausgeführter Versuch zeigte, daß nach der Absorption des Choleraserums durch diesen Vibrio sämtliche Stämme agglutinieren, ausgenommen der zur Absorption angewendete Stamm 977, der also nur seine eigene Agglutinine absorbiert.

Zuletzt, nach beendigter Absorption des Choleraserums durch den Stamm 1012, haben sämtliche Vibrionen agglutiniert, mit Ausnahme der Stämme 1012 und 1252. Daraus erhellt, daß die für die untersuchten Vibrionen „bestimmten“ Choleraserumagglutinine nicht einheitlich sind, sondern in 3 Gruppen eingeteilt werden dürfen. Diese Annahme wird noch durch den folgenden Versuch bekräftigt: nachdem ich von jeder Gruppe je einen Vertreter gewählt, absorbierte ich das Choleraserum zuerst durch einen Stamm, sodann durch einen 2., die Reste der vorherigen durch einen 3. und zuletzt durch Cholera. Nun, nach Absorption dieses Serums mittels des Vibrio 1012, agglutinierte es nicht mehr mit diesem Stamme; dagegen fiel die Agglutination mit 1004, 977 und mit Cholera gleich derjenigen der Kontrolle aus. Nach der 2. Absorption durch den Stamm 977 verschwand die Agglutination mit diesem Stamme, desgleichen auch mit 1012; mit dem Stamme 1004 war sie nur unbedeutend gesunken und mit Cholera blieb sie ungeändert. Nach der 3. Absorption mittels des Stammes 1004 sank die Agglutination auch mit demselben bis auf 0° hinab — und blieb nur für die Cholera erhalten. Endlich, nach Absorption der von den 3 vorherigen, durch Cholera bewirkten Absorptionen übrig gebliebenen Reste, enthielt das Choleraserum keine Agglutinine mehr für die untersuchten Bakterien. Die bei diesem Versuche erhaltenen Resultate zeigt

Tabelle V.

Stamm	Agglutination mit dem Choleraserum nach der Absorption vermittels				
	ohne Absorption (Kontr.)	1012	1012 und 977	1012, 977 und 1004	1012, 977, 1004 und Cholera
1012	○	●	●	●	●
977	○	○	●	●	●
1004	○	○	○	●	●
Cholera	○	○	○	○	●

● bedeutet Aufhören der Agglutination nach der Absorption
○ „ Anwesenheit der „ „ „ „

Es gelang mir, die Agglutinine im untersuchten Choleraserum in 4 Arten zu zerlegen: 1) für 977, 2) für 1004, 1103, 1131 und 349; 3) für 1012 und 1252; 4) für Cholera und für den Vibrio El-Tor.

Diese Gruppen entsprechen vollständig denjenigen, in welche die untersuchten Vibrionen mittels der durch Immunisierung von Kaninchen mit einzelnen Stämmen gewonnenen Sera eingeteilt wurden.

Welcher Art sind nun die Beziehungen zwischen den im Choleraserum enthaltenen und für einzelne Vibrionengruppen bestimmten Agglutininen und den im Blute von Kaninchen erzeugten, durch die Immunisierung derselben mittels einzelner Stämme? Sowohl die einen als auch die anderen agglutinieren nur mit Vibrionen aus ihrer eigenen Gruppe; die im Choleraserum enthaltenen Agglutinine für einzelne Vibrionengruppen werden von der Cholera absorbiert. Demnach bleibt also noch die Frage offen, ob die Cholera dieselben ebenfalls aus dem Serum der mit den untersuchten Vibrionen immunisierten Kaninchen zu absorbieren vermag.

Zu diesem Zwecke absorbierte ich eine Portion von Kaninchencholeraserum 1012 in entsprechender Verdünnung durch den Stamm 1012, und eine 2., ganz identische Portion durch die Cholera. Diese Versuche lieferten den Beweis, daß 1 mg Agarkultur des Vibrio 1012 schon ausreicht, um sämtliche im Serum 1012 enthaltenen Agglutinine zu absorbieren, dagegen selbst 64 mg Cholera dieselben gar nicht zu absorbieren vermögen. Ich habe weiter festgestellt, daß selbst 64 mg des Vibrio 1004 aus dem Serum 1012 gar keine Agglutinine absorbieren.

Daraus wäre also zu schließen, daß die im Pferdecholeraserum enthaltenen Agglutinine für den Stamm 1012 von den im Kaninchenserum 1012 enthaltenen Agglutininen differieren, da die Cholera die ersteren absorbiert, die zweiten dagegen nicht.

Zusammenfassend, können aus dem letzten Teile meiner Arbeit folgende Schlüsse gezogen werden: 1) Die im Choleraserum enthaltenen und für die untersuchten Vibrionen bestimmten Agglutinine werden durch die Cholera absorbiert; dagegen absorbieren diese Vibrionen nicht die Choleraagglutinine; 2) die im Choleraserum befindlichen Agglutinine sind keine einheitlichen, und es gelang mir, dieselben in 4 Gruppen zu zerlegen, die genau denjenigen entsprechen, in welche ich die untersuchten Vibrionen einteilte mittels Immunisierung von Kaninchen mit einzelnen Stämmen; 3) die Agglutinine für einzelne Vibrionengruppen, welche im Serum der mit denselben immunisierten Kaninchen enthalten sind, differieren von deren Agglutininen im Choleraserum, da die Cholera sie aus dem Kaninchenserum nicht absorbiert.

Meine vorliegende Arbeit bewegt mich zu folgenden Bemerkungen: Bei der Diagnose von Cholera auf Grund von Agglutination ist auch die Mitagglutination zu berücksichtigen.

Neben den Hauptagglutininen enthält das Agglutinationsserum noch eine ganze Reihe von Mitagglutininen (im vorliegenden Falle habe ich deren 3 Arten isoliert), welche mit den nicht-spezifischen Bakterien agglutinieren (in meinem Falle — mit den choleraähnlichen Vibrionen).

Um festzustellen, ob man einer Mitagglutination gegenübersteht, ist es ratsam, die Castellani'sche Absorptionsprobe auszuführen: die mitagglutinierenden Bakterien absorbieren aus dem Serum nur die Mitagglutinine, wobei die Hauptagglutinine ungeändert bleiben; die spezifischen Bakterien absorbieren dagegen sämtliche Agglutinine ohne Ausnahme. Mit Rücksicht auf diesen Tatbestand, sind die Absorptionsproben ein äußerst wichtiges Hilfsmittel für die Unterscheidung der Cholera

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

von anderen Bakterien; sie sollten stets vorgenommen werden, besonders wenn es sich um die ersten Epidemiefälle handelt.

Das agglutinierende Pferdecholeraserum agglutiniert — außer mit der Cholera — auch noch mit gewissen choleraähnlichen Vibrionen. Diese Erscheinung tritt nicht allein in irgendeiner Reihe der von Pferden gewonnenen Sera auf, sondern sie konnte an sämtlichen untersuchten, von Pferden stammenden Choleraseris beobachtet werden, die noch dazu in verschiedenen Instituten bereitet worden waren.

Wir sehen also, daß bei den mit einem einzelnen Keimstoffe, wie z. B. mit der Cholera, geimpften Pferden wahrzunehmen ist, daß das Blut dieser Tiere nicht allein mit den injizierten Bakterien, sondern auch mit anderen Mikroorganismen, wie mit gewissen choleraähnlichen Vibrionen, agglutiniert.

Hier fällt die Analogie der beschriebenen Erscheinung mit dem Musiktone auf. Wie aus der Akustik bekannt, besteht der Laut aus einem Grundton und einer ganzen Reihe von sogenannten Obertönen. Die Reizung nun, welche für das Pferd die Injektion von Cholerabakterien darstellt, bewirkt in seinem Blute, außer den Hauptagglutininen (für die Cholera), auch noch die Entstehung einer ganzen Reihe von Mitagglutininen.

Dieses Phänomen könnte vielleicht gewissermaßen dazu beitragen, den Umstand zu erläutern, daß im Blute der Fleckfieberkranken Agglutinine gegen verschiedene Bakterienarten enthalten sind, die mit Fleckfieber nicht immer in einen direkten ätiologischen Zusammenhang gebracht werden können.

Zum Schlusse drücke ich Herrn Prof. Odo Bujwid meinen innigsten Dank aus für sein dauerndes Interesse und seine Unterstützung.

Literaturverzeichnis.

1) Altmann u. Schulz, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 3.
2) Baerthlein, Berlin. klin. Wochenschr. 1911.
3) de Besche u. Kohn, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 62.
4) Bocchia, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 60.
5) Bordet u. Gengou, Ann. de l'Instit. Pasteur. 1901.
6) Bujwid, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. 1916.
7) Castellani, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 70.
8) Eisenberg u. Volk, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 46.
9) Gil Cesares, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. 1915.
10) Gotschlich, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 53.
11) Gruber u. Durham, München. med. Wochenschr. 1895.
12) Karwacki, Pamietnik. Mark. Tow. Lek. 1906.
13) Kolle u. Gotschlich, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 44.
14) Kolle u. Schürmann, Handb. d. pathog. Mikroorganism. 1912.
15) Kolle, Zeitschr. f. Hyg. 1894.
16) Messerschmidt, München. med. Wochenschr. 1916.
17) Pfeiffer u. Kolle, Deutsch. med. Wochenschr. 1896.
18) Prausnitz, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 43.
19) Quadfling, Zeitschr. f. Medizinalbeamte. 1916.
20) Stamm, Johannes, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 1914.
21) Zlatogoroff, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. 1911.

Nachdruck verboten.

Ueber gegenseitige Beziehungen der Agglutinine des Bazillus X 19 und der Typhus- und Ruhrgruppe.

[Aus der bakteriologischen Untersuchungsstelle (Leiter: Prof. Dr. Prausnitz) des hygienischen Universitätsinstituts Breslau (Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. R. Pfeiffer).]

Von Dr. **Felix E. R. Loewenhardt**, Assistent.

Im Serum Fleckfieberkranker ist häufig neben der Weil-Felixschen Reaktion eine Agglutination verschiedener anderer Bakterienarten, insbesondere der Typhus- und Ruhrgruppe, beobachtet und hinsichtlich ihrer Bedeutung von mehreren Autoren lebhaft diskutiert worden, so von Weil und Felix, Reichenstein, Weltmann, Starkenstein und Zitterbart u. a. m.

Ueber das Zustandekommen dieser polyagglutinatorischen Fähigkeiten des Fleckfieberserums sind die Meinungen noch sehr geteilt. So meint Weltmann, daß entweder während der Krankheit phasenweise Partialagglutinine auftreten, von denen die gegen X 19 gerichteten eine die diagnostische Verwertbarkeit ermöglichende Konstanz besitzen, oder es handele sich bei der Ausflockung um einen chemisch-physikalischen Prozeß, der nach W. mit der Serumagglutination nicht identisch ist.

Weil und Felix fanden, daß bei gegen Typhus geimpften Personen a) in etwa 53 Proz. im Verlaufe des Fleckfiebers eine oft erhebliche Zunahme der Typhusagglutinine, b) in etwa 33 Proz., bei denen die Impfung schon so lange zurückliegt, daß die Typhusagglutination bereits verschwunden war, ein Wiederauftreten der Typhusagglutinine stattfindet.

Starkenstein und Zitterbart, die außer Agglutination von Typhus auch gelegentlich eine solche von Paratyphus, sowie Ruhr-Flexner und Shiga fanden, sind der Meinung, daß die bei Fleckfieber vorhandenen Antigene und Antikörper (Typhus, Paratyphus einerseits, Fleckfieber andererseits) keine gegenseitige Beeinflussung erfahren. Es handele sich entweder um Ausschwemmung okkulter, früher auf spezifischem Wege entstandener Antikörper, oder um physikalisch-chemische Zustandsveränderungen der Serumkolloide im Fleckfieberserum.

Croner führt die Polyagglutination auf Mischinfektion zurück.

Elias tritt für die Annahme einer gemeinsamen, zum Teil absolut charakteristischen, aber unspezifischen, wahrscheinlich physikalisch-chemischen Ursache ein.

Felix bestreitet die polyagglutinatorischen Fähigkeiten des Fleckfieberkrankenserums, da keiner der vielen Keime regelmäßig charakteristische Ausflockung zeigte.

Kreuscher berichtet über regelmäßige Agglutination eines Stammes der Pyocyaneus-Gruppe.

Werner und Leoneanu fanden im Serum gegen X 19 immunisierter Menschen in 2 von 7 Fällen Koagglutination von Typhusbazillen. Ich möchte gleich hierzu bemerken, daß es sich bei den gegen X 19 Geimpften um Landeseinwohner (Rumänen) gehandelt hat, von denen man annehmen darf, daß sie in der Jugend Typhus durchgemacht hatten, wenn auch nach Angabe des Verf. anamnestisch eine Typhuserkrankung nicht festzustellen war. Es ist wohl etwas gewagt, auf Grund dieser Versuche eine große Verwandtschaftsnähe zwischen X 19 und Typhus anzunehmen, und damit den Typhustiter auf den Immunisierungsprozeß mit X 19 zurückzuführen. Ich komme auf diese Frage bei Besprechung meiner Versuche noch zurück.

Schaeffer beschäftigte sich mit der Agglutination von Fleckfieberseren gegenüber Coli- und Proteus-Stämmen. Er nimmt an — anscheinend auf der Grundlage der Ehrlichschen Seitenkettentheorie — daß vielleicht der vom Fleckfiebervirus ausgehende spezifische Reiz eine Abstoßung von Normalagglutininen, und zwar möglicherweise von den weißen Blutkörperchen herrührend, verursacht, wodurch dann die spezifische Agglutination zustande käme.

Alle diese Erörterungen haben aber, wie man sieht, zu keinem endgültigen Ergebnis bisher geführt. Ich will daher im Folgenden versuchen, zur Aufklärung dieser Frage beizutragen:

Im hiesigen Institut wurden im Laufe dieses Jahres 122 Sera Fleckfieberkranker untersucht. Nach ihrer Herkunft und Ergebnis setzten sie sich folgendermaßen zusammen:

Tabelle I.

	Gesamtzahl	Weil-Felix positiv, Typhus-Ruhr negativ	Weil-Felix positiv, außerdem Widal positiv für		
			Typhus, Para- A und B	Ruhr, Flexner, Shiga, Y	Typhus- und Ruhrgruppe
Typhusgeimpfte (Soldaten und Kriegsgefangene)	78	52 (66,7 Proz.)	7 (9 Proz.)	4 (5,1 Proz.)	15 (19,2 Proz.)
Zivilpersonen aus Typhusverseuchten Gebieten	10	5 (50 Proz.)	2 (20 Proz.)	1 (10 Proz.)	2 (20 Proz.)
Sonstige Zivilpersonen (die sicher weder Typhus noch Ruhr gehabt haben)	34	29 (85,3 Proz.)	—	4 (11.7 Proz.)	1 (3 Proz.)
Summe	122	86 (70,5 Proz.)	9 (7,35 Proz.)	5 (7,35 Proz.)	18 (14,8 Proz.)

Zu dieser Tabelle sei zur Erläuterung bemerkt, daß als positiv nur die Agglutinationen bezeichnet sind, die beim Weil-Felix mindestens 1:100, bei der Typhus- und Ruhrgruppe mindestens 1:120 betragen. In Spalte 1 der Tabelle sind also Fleckfieberkranke verzeichnet, die sicher Typhus-geimpft sind und eventuell auch noch Typhus durchgemacht haben. Ebenso ist eine vorhergegangene Erkrankung an Ruhr, wenn auch nicht sicher, so doch äußerst wahrscheinlich, da das Heer stark mit Ruhr verseucht gewesen ist. Spalte 2 umfaßt Kranke aus verseuchten Gebieten, meist Polen, bei denen anamnestisch zwar weder Typhus- noch Ruhrerkrankung nachweisbar war, aber doch in Betracht gezogen werden mußte. Spalte 3 umfaßt Kranke mit anamnestisch fehlender früherer Erkrankung an Typhus oder Ruhr.

Da mir nun besonders der, auch bereits von Dienes diskutierte, relativ häufige Befund eines recht hohen Ruhrtiters (bei 22,2 Proz.), wie wir ihn bei Ruhrkranken nicht häufig fanden, einer näheren Untersuchung wert erschien, so untersuchte ich, in der Absicht, eine nähere Aufklärung dieser Agglutinationsverhältnisse bezüglich etwaiger gegenseitiger Beziehungen zwischen X 19 und der Typhus- und Ruhrgruppe zu finden, eine Anzahl der in der Tabelle aufgeführten Fleckfieberkrankensera mit gleichzeitigem Typhus- oder Ruhrtiter mit der Castellanischen Absättigungsmethode. Vorweg sei gleich betont, daß sich erhebliche Unterschiede zwischen den Agglutininen der Typhus- und denen der Ruhrgruppe in ihrer gegenseitigen Beeinflussung, resp. Beziehung zum Bazillus X 19 ergaben.

Zunächst seien die Versuchsprotokolle über die gegenseitige Absättigung der Fleckfieberkrankensera mit dem Bazillus X 19, bzw. denen der Typhusgruppe (Typhus, Paratyphus A, Paratyphus B) und der Ruhrgruppe (Flexner, Shiga-Kruse, Y) angeführt.

Der in den folgenden Tabellen als XM bezeichnete Bazillus ist ein aus dem Blut eines Fleckfieberkranken gezüchteter Proteus-Stamm, der meistens von Fleckfieberkrankenseris in ebenso hoher oder noch höherer Verdünnung wie Proteus X 19 agglutiniert wurde.

Tabelle II.

Serum No. 288.

Titer für	vor der Absättigung	nach der Absättigung mit	
		Typhus	X 19
Typhus	1280	< 60	320
X 19	320	160	< 20

Serum No. 371.

Titer für	vor der Absättigung	nach der Absättigung mit		
		Typhus	Y	X 19
Typhus	320	< 40	160	320
Y	160	160	< 40	40
X 19	640	320	640	< 20

Serum No. 207.

Titer für	vor der Absättigung	nach der Absättigung mit			
		Typhus	Flexner	Shiga	X 19
Typhus	>320	< 40	>320	>320	>320
Flexner	160	160	< 40	< 40	160
Shiga	320	320	< 40	< 40	320
X 19	640	640	640	320	< 20

Serum No. 211.

Titer für	vor der Absättigung	nach der Absättigung mit	
		Typhus	X 19
Typhus	160	<40	80
X 19	160	80	<20

Serum No. 212.

Titer für	vor der Absättigung	nach der Absättigung mit				
		Typhus	B	Flexner	Shiga	XM
Typhus	320	< 40	160	320	320	320
Paratyph. B	160	< 40	< 40	160	160	160
Flexner	320	320	320	< 40	80	80
Shiga	320	320	320	< 40	< 40	80
XM	640	640	640	640	640	< 20

Serum No. 315.

Titer für	vor der Absättigung	nach der Absättigung mit			
		Typhus	Flexner	Shiga	XM
Typhus	480	< 60	480	480	480
Flexner	160	160	< 40	< 40	80
Shiga	320	320	< 40	< 40	80
XM	320	320	320	320	< 20

Serum No. 217.

Titer für	vor der Absättigung	nach der Absättigung mit	
		Typhus	XM
Typhus	160	< 40	160
XM	320	320	< 20

Serum No. 421.

Titer für	vor der Absättigung	nach der Absättigung mit	
		Typhus	X 19
Typhus	640	< 40	640
X 19	320	320	< 20

Serum No. 429.

Titer für	vor der Absättigung	nach der Absättigung mit	
		Shiga	X 19
Shiga	120	< 40	< 40
X 19	320	160	< 20

Serum No. 310.

Titer für	vor der Absättigung	nach der Absättigung mit	
		Flexner	X 19
Flexner	120	< 40	40
X 19	160	160	< 20

Serum No. 311.

Titer für	vor der Absättigung	nach der Absättigung mit				
		Typhus	Flexner	Shiga	Y	X 19
Typhus	160	< 40	80	80	80	80
Flexner	160	80	< 40	< 40	40	40
Shiga	160	80	< 40	< 40	80	80
Y	320	160	80	80	< 40	160
X 19	320	320	320	320	320	< 20

Serum No. 312.

Titer für	vor der Absättigung	nach der Absättigung mit		
		Typhus	X 19	XM
Typhus	120	< 40	120	120
X 19	120	80	< 20	< 20
XM	320	320	80	< 20

Serum No. 313.

Titer für	vor der Absättigung	nach der Absättigung mit	
		Typhus	X 19
Typhus	120	< 40	120
X 19	160	160	< 20

Serum No. 459.

Titer für	vor der Absättigung	nach der Absättigung mit		
		Typhus	A	X 19
Typhus	160	< 40	80	160
Paratyph. A	160	< 40	< 40	160
X 19	1280	1280	1280	< 20

Serum No. 314.

Titer für	vor der Absättigung	nach der Absättigung mit		
		Typhus	Y	X 19
Typhus	160	< 40	160	160
Y	160	80	< 40	40
X 19	120	120	120	< 20

Serum No. 317.

Titer für	vor der Absättigung	nach der Absättigung mit		
		Shiga	Y	X 19
Shiga	640	< 40	320	320
Y	160	40	< 40	80
X 19	640	640	640	< 20

Serum No. 318.

Titer für	vor der Absättigung	nach der Absättigung mit	
		Typhus	X 19
Typhus	320	< 40	320
X 19	640	640	< 20

Serum No. 460.

Titer für	vor der Absättigung	nach der Absättigung mit		
		Typhus	A	X 19
Typhus	1280	160	1280	1280
Paratyph. A	160	< 40	< 40	160
X 19	640	640	640	< 20

Serum No. 466.

Titer für	vor der Absättigung	nach der Absättigung mit		
		Typhus	Y	X 19
Typhus	160	< 40	160	160
Y	320	320	< 40	80
X 19	640	640	640	< 20

Wenn man nun die Ergebnisse obiger Protokolle hinsichtlich der gegenseitigen Beeinflussung der Agglutinine durch die Absättigung mit X 19, bzw. mit der Typhus- und Ruhrgruppe zusammenfaßt, ergibt sich folgende Tabelle (S. 196):

Hiernach hatte also die Absättigung mit X 19 fast immer (14mal, und zwar 9mal stark, 5mal schwach bei 16 Fällen) Einfluß auf den Titer der Ruhrgruppe, dagegen nur selten (3mal, und zwar 2mal schwach, 1mal stark bei 18 Fällen) auf den Titer der Typhusgruppe; umgekehrt wurde der X 19-Titer nur selten durch die Typhusgruppe (3mal schwach bei

Tabelle 3.

Agglutinationstiter von	Wurde beeinflußt durch die Absättigung mit																				
	Typhus			Para-A			Para-B			Flexner			Shiga			Y			X 19		
	0	+	++	0	+	++	0	+	++	0	+	++	0	+	++	0	+	++	0	+	++
Typhus	—	—	—	1	1	0	0	1	0	3	1	0	3	1	0	2	2	0	12	2	1
Paratyph. A	0	0	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	0	0
Paratyph. B	0	0	1	—	—	—	—	—	—	1	0	0	1	0	0	—	—	—	1	0	0
Flexner	3	1	0	—	—	—	1	0	0	—	—	—	0	0	4	0	0	1	1	2	2
Shiga	3	1	0	—	—	—	1	0	0	0	0	4	—	—	—	0	2	0	1	1	4
Y	2	2	0	—	—	—	—	—	—	0	0	1	0	0	2	—	—	—	0	2	3
X 19	13	3	0	2	0	0	1	0	0	5	0	0	4	2	0	5	2	0	—	—	—

In obiger Tabelle bedeutet: 0 = keine Veränderung des ursprünglichen Titers, + = Herabsetzung auf die Hälfte, ++ = Herabsetzung auf mindestens ein Viertel des ursprünglichen Titers.

16 Fällen) und durch die Ruhrgruppe (4mal schwach bei 14 Fällen) beeinflußt. Die Typhusgruppe wurde bezüglich ihrer Titerhöhe im Serum durch die Ruhrgruppe 4mal von 14 Fällen, die Ruhrgruppe durch die Typhusgruppe ebenfalls 4mal von 14 Fällen, und zwar beide Gruppen nur schwach beeinflußt. Eine nähere Erörterung dieser Befunde wird am Schluß der Untersuchung gebracht werden.

Nun stellte ich mir die Frage, ob sich vielleicht ähnliche Verhältnisse wie beim Fleckfieberkrankenserum auch beim X 19-Immunserum vorfänden. Zu diesem Zwecke wurden 2 Kaninchen zuerst mit X 19 und sodann das eine mit Typhus, das andere mit Ruhr-Flexner immunisiert. Das Immunserum des 1. wurde darauf mit X 19 und Typhus, das des 2. mit X 19 und Ruhr-Flexner abgesättigt.

Tabelle 4.

Serum No. 858.

Titer für	vor der Absättigung	nach der Absättigung mit Typhus	nach der Absättigung mit X 19
Typhus	5120	80	5120
X 19	5120	5120	< 20

Serum No. 866.

Titer für	vor der Absättigung	nach der Absättigung mit Flexner	nach der Absättigung mit X 19
Flexner	5120	< 40	640
X 19	5120	5120	< 20

Aus diesen Tabellen ergab sich also, daß, analog den beim Fleckfieberkrankenserum gefundenen Verhältnissen, keine gegenseitige Beeinflussung des Immunserumtiters durch X 19 und Typhus, dagegen Herabsetzung des Immuntiters für Ruhr-Flexner durch Absättigung mit X 19 und keine Verminderung des X 19-Titers durch Absättigung mit Ruhr-Flexner stattfand.

Da nun sich aus dem Vorhergegangenen so gut wie gar keine Beziehungen zwischen der Typhusgruppe und X 19 ergeben hatten, so beschränkte ich mich des weiteren auf die Frage der Beziehungen zwischen X 19 und der Ruhrgruppe und untersuchte nun, ob etwa sich der Agglutinationstiter eines Ruhrkrankenserums durch Absättigung mit

X 19, bzw. der **Weil-Felix**-Titer eines Fleckfieberkrankenserums durch Absättigung mit der Ruhrgruppe beeinflussen ließe:

Tabelle 5.

Serum No. 1249.

Titer für	vor der Absättigung	nach der Absättigung mit X 19
Shiga	60	60
Y	120	120
X 19	0	0

Serum No. 1064.

Titer für	vor der Absättigung	nach der Absättigung mit Flexner	Shiga	Y
X 19	2560	2560	2560	2560
Flexner	0	0	0	0
Shiga	0	0	0	0
Y	0	0	0	0

Es ergab sich also keine Beeinflussung der Höhe des Agglutinationstiters eines Ruhrkrankenserums durch Absättigung mit X 19, bzw. der Höhe des **Weil-Felix**-Titers durch Absättigung mit der Ruhrgruppe.

Nun untersuchte ich, ob sich diese Verhältnisse bei einem Serum, das durch Vermischung eines Ruhrkrankenserums mit einem Fleckfieberkrankenserum, das nicht auch noch andere Bakterien agglutinierte, irgendwie veränderten. Es war also gewissermaßen ein künstlich hergestelltes polyagglutinierendes Fleckfieberserum; ich konnte jedoch, da mir leider kein weiteres Material mehr zur Verfügung stand, kein Fleckfieberkrankenserum verwenden, sondern benutzte das Serum eines anderen Kranken, dessen Serum den X 19 hoch agglutinierte. Fleckfieber war klinisch auszuschließen; ebenso eine frühere Erkrankung an Fleckfieber. Außerdem waren die Agglutinine für X 19 thermostabil, ein Befund, der nach den Untersuchungen von **Hamburger** und **Bauch**, **Czépai**, **Werner** und **Leoneanu**, **Prausnitz** u. a. absolut gegen eine Fleckfiebererkrankung spricht. Eine frühere Erkrankung war ebenfalls auszuschließen. Ich hielt mich zur Verwendung dieses Serums berechtigt, da die oben erwähnten Versuche mit X 19-Kaninchenimmunserum analoge Verhältnisse wie beim Fleckfieberkrankenserum ergeben hatten. Serum No. 1234 + Serum No. 1269 (24 Std. im Eisschrank).

Tabelle 6.

Titer für	vor der Absättigung	nach der Absättigung mit Flexner	Shiga	Y	X 19
Flexner	120	< 60	< 60	< 60	60
Shiga	120	< 60	< 60	< 60	60
Y	240	< 60	< 60	< 60	120
X 19	3840	3840	3840	3840	< 20

Ich vermischte also gleiche Volumina eines Ruhrkrankenserums mit diesem X 19-Krankenserum und bewahrte das Gemisch 24 Std. im Eisschrank auf.

Wie die Tabelle 6 zeigt, hatte die Vereinigung der beiden Sera ziemlich analoge Verhältnisse bewirkt, wie ich sie vorher bei den Fleckfieberkrankenseris, die von vornherein Ruhrbazillen agglutinierten, gefunden hatte.

Da nun von einzelnen Autoren auch die Agglutination von Coli-Stämmen durch Fleckfieberkrankensera beobachtet worden war, so untersuchte ich sodann, ob etwa durch Absättigung mit dem B. coli comm. und dem Proteus vulg. sich die Höhe des Agglutinationstiters von polyagglutinierenden Fleckfieberkrankenseris beeinflussen ließe. Ich verwandte zur Absättigung je 2 verschiedene Stämme von B. coli und Proteus vulg., die keinerlei Besonderheit hinsichtlich ihres biologischen Verhaltens aufwiesen:

Tabelle 7.

Serum No. 4538.

Titer für	vor der Absättigung	nach der Absättigung mit Coli	Proteus
Flexner	40	40	40
Shiga	40	40	40
Y	80	80	80
X 19	160	160	160

Serum No. 4560.

Titer für	vor der Absättigung	nach der Absättigung mit Coli	Proteus
Flexner	80	80	80
Shiga	80	80	80
Y	160	160	160
X 19	320	320	320

Wie aus diesen Tabellen zu ersehen ist, wurden die Titer für Ruhr bzw. X 19 durch B. coli und Proteus nicht beeinflußt.

Um nun zu einer Erklärung dieser ganzen Verhältnisse zu kommen, legte ich mir die Frage vor, ob diese Beziehungen der Agglutinine viel-

Tabelle 8.

	1	2	3	4	5	6	7	8
(H+)	$1,7 \cdot 10^{-5}$	$3,5 \cdot 10^{-5}$	$0,7 \cdot 10^{-4}$	$1,38 \cdot 10^{-4}$	$2,76 \cdot 10^{-4}$	$5,5 \cdot 10^{-4}$	$1,1 \cdot 10^{-3}$	$2,2 \cdot 10^{-3}$
Milchsaures Natron n/10	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Milchsäure (1—6 = n/10 6—9 = n/1)	006	012	025	05	1,0	0,2	0,4	0,8
Wasser	1,54	1,48	1,36	1,1	0,6	1,4	1,2	0,8
Kultur	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Bac. Typhi	—	+++	++	+	—	—	—	—
„ Paratyphi A	—	+	++	+++	—	—	—	—
„ „ B	—	—	+	++	+++	—	—	—
„ Flexner	—	—	—	—	—	—	—	—
„ „ (gekocht)	—	—	—	—	—	—	±	—
„ Shiga	—	—	—	—	—	—	—	—
„ „ (gekocht)	—	—	—	—	—	—	—	±
„ Y	—	—	—	—	—	—	—	—
„ „ (gekocht)	—	—	—	—	—	—	—	+
„ X 19	—	—	—	+++	+	+	±	—
„ „ (gekocht)	—	—	—	—	—	—	—	—
„ XM	—	—	—	+++	++	+	±	—
„ „ (gekocht)	—	—	—	—	—	—	—	—

leicht rein physikalisch-chemisch auf Grund des Gehaltes des Serums an H+-Ionen zu erklären sei. Ich ging dabei indirekt vor, indem ich nach der Methode von Beniasch, auf dessen Arbeit bezüglich der Methodik und Berechnung verwiesen sei, untersuchte, ob etwa die von mir benutzten Stämme bei annähernd gleicher H+-Ionen-Konzentration ausgeflockt würden. Das Ergebnis findet sich in der vorstehenden Tabelle.

Hiernach war also auf Grund der Ausflockung bei bestimmter H+-Ionenkonzentration keine Erklärung der Verhältnisse zu finden, denn das Beziehungsverhältnis des X 19 zu den anderen Bakterien war gerade umgekehrt wie bei den oben gefundenen Absättigungsbeziehungen: keine Verwandtschaft zur Ruhrgruppe, geringe zu Typhus und starke zu Paratyphus A und B.

Vor einer weiteren Besprechung meiner Versuchsergebnisse möchte ich mich noch zu den Ergebnissen einiger der oben erwähnten Autoren äußern:

Weil und Felix berichten über einen recht hohen Prozentsatz von positivem Widal für Typhus bei Geimpften (Rubrik a: 53 Proz., Rubrik b: 33 Proz.), während bei meinen Fällen nur 28 Proz. vorhanden sind. Es läßt sich dies wohl darauf zurückführen, daß meine Fälle alle der Weil-Felixschen Rubrik b entsprechen, so daß sich annähernd gleiche Prozentzahlen ergeben.

Die Möglichkeit einer Mischinfektion (Croner) ist natürlich nicht immer auszuschließen, kann aber unmöglich eine Erklärung für alle Fälle von Polyagglutination sein. Für meine Fälle kommt sie schwerlich in Betracht, da stets von den zur Untersuchung eingesanden ca. 10 ccm Blut das gesamte Blutgerinnsel mit Gallekulturverfahren untersucht wurde und stets negatives Ergebnis hatte.

Was die von Felix vermißte, charakteristische Ausflockung bei der Agglutination anbelangt — Felix vermißt sie bei Polyagglutination und lehnt daher eine polyagglutinatorische Fähigkeit des Fleckfieberkrankenserums ab — so habe ich sie bei meinen Fällen stets beobachtet. Es ist unter „charakteristisch“ die typische Agglutination zu verstehen, wie man sie bei reinen Typhus- bzw. Ruhrkrankenseris vorfindet. Manchmal bestand sie allerdings in ganz hohen Serumverdünnungen nicht mehr, es wurden aber dann diese Werte auch nicht mehr berücksichtigt; die in den Tabellen angegebenen Werte beziehen sich stets auf typische Agglutination.

Zur Erklärung der ganzen strittigen Angelegenheit der Polyagglutination der Fleckfieberkrankensera ließe sich auf Grund meiner Versuchsergebnisse folgendes vorbringen:

1) Es muß unterschieden werden zwischen Mitagglutination der Typhusgruppe und Mitagglutination der Ruhrgruppe.

Das Auftreten der Typhusagglutinine ist als ein Wiederhervortreten früher erworbener Antikörper aufzufassen (Weil und Felix); in dieser Hinsicht sind die positiven Agglutinationsbefunde der Bakterien der Typhusgruppe meiner Tabelle 1 zu verwerten.

2) Die Mitagglutination der Ruhrgruppe erklärt sich — im Sinne der Ehrlichschen Seitenkettentheorie — durch die Annahme einer gewissen Verwandtschaft der Ruhrantigene mit den X 19-Antigenen. Diese Verwandtschaft ist allerdings von weiterem Umfange, als wir sie z. B. in der Typhusgruppe finden. Hierfür spricht der Absättigungs-

versuch, wonach man aus einem Serum, das X 19-Agglutinine und Ruhr-Agglutinine enthält, durch Absättigung mit X 19 beide Arten von Agglutininen mehr oder weniger vollständig herausholen kann, während es umgekehrt nicht möglich ist, durch Ruhrbazillen aus einem ebensolchen Serum die X 19-Agglutinine zu entfernen. Ich nehme also an, daß die durch den Anreiz des Fleckfiebervirus im Krankenserum auftretenden Agglutinin-Rezeptoren bestehen aus „dominierenden“ Rezeptoren für den Bazillus X 19 und „rezessiven“ Rezeptoren für die Ruhrgruppe. Andererseits besitzt der X 19 außer den „dominierenden“ Seitenketten des Antigens, die sich bei der Weil-Felixschen Reaktion mit den dominierenden Rezeptoren im Fleckfieberkrankenserum verankern, noch rezessive Seitenketten des Antigens für andere Agglutininrezeptoren. Es kann daher einerseits eine Agglutination von Ruhrbazillen stattfinden, andererseits ist es möglich, in einem Fleckfieberkrankenserum, das Ruhrbazillen agglutiniert, durch Absättigung mit X 19 zugleich auch die Höhe des Ruhrtiters wesentlich zu beeinflussen.

3) Die gleichzeitige Entfernung der Ruhragglutinine bei Absättigung mit X 19 ist abhängig von der Anzahl bzw. Konzentration und der Festigkeit der Bindung der rezessiven Rezeptoren.

4) Es kann sich nur um geringe Affinität oder spärliches Vorkommen dieser rezessiven Rezeptoren handeln, denn es gelingt nicht, durch künstliche Immunisierung mit X 19 gleichzeitig ein polyagglutinierendes Serum zu erhalten.

5) Im Sinne meiner Erklärung sind auch die Versuche von Hamburger und Bauch, Czépai, Braun und Salomon und Prausnitz zu verwenden, die über die Thermostabilität der Agglutinine des X 19-Immunserums arbeiteten, das sich ja hauptsächlich durch diese Thermostabilität von dem Fleckfieberkrankenserum unterscheidet: Die Weil-Felixsche Reaktion X 19 ist keine streng spezifische Reaktion, sondern anscheinend nur eine Paragglutination. So läßt sich auch der von Kreuscher erhobene Befund erklären, daß ein bestimmter Pyocyaneus-Stamm sich bezüglich seiner Agglutination durch Fleckfieberkrankenserum ebenso wie X 19 verhält; ferner der von verschiedenen Autoren erhobene Befund der Mittagglutination anderer Proteus- und verschiedener Coli-Stämme.

6) Die Tatsache, daß Fleckfieberkrankenserum außer X 19 auch noch andere Proteus-Stämme, einige Coli-Stämme, den Plotzschen Bazillus, den Pyocyaneus-Kreuscher u. a. agglutiniert, läßt sich vielleicht noch anschaulicher dadurch erklären, daß man sich vorstellt, daß die dominierenden Rezeptoren des Fleckfieberserums einfach gebaut sind; um den altbekannten Vergleich vom Schlüssel und Schloß heranzuziehen: es sind Schlösser, die so einfach gebaut sind, daß sie sich mit verschiedenen, ebenfalls einfachen Schlüsseln öffnen lassen, während man sie mit einem komplizierter gebauten Schlüssel nicht öffnen kann.

Mit dieser Erklärung würden sich auch etwaige weitere Befunde von Mitagglutination bisher noch nicht nachgeprüfter Bakterienarten vereinigen lassen.

7) Einen rein chemisch-physikalischen Vorgang anzunehmen, ist deshalb wohl nicht recht angängig, weil doch sicherlich eine, wenn auch nicht absolute, so doch weitgehende Spezifizität der Reaktion vorhanden ist und die Säureagglutination (Tabelle 8) keinerlei Verwandtschaftsbeziehungen ergibt. Vorläufig wenigstens läßt sich ja das Wesen der Agglutination nicht völlig auf chemisch-physikalischem Wege erklären.

8) Das Gesetz der Massenwirkung für die Absättigungsbeziehungen zur Erklärung heranzuziehen, ist wohl deshalb nicht möglich, da doch zum mindesten eine gewisse Beziehung zwischen der Höhe des Titers der Agglutination und der Herabsetzung des Titers durch die Absättigung vorhanden sein müßte.

Diese Untersuchungen mußten mangels weiteren Materials zunächst abgebrochen werden. Ich behalte mir vor, weitere Ergebnisse später zu veröffentlichen.

Literatur.

Weltmann, Wien. klin. Wochenschr. 1916. S. 573. — Weil u. Felix, Ebenda. 1916. S. 974. — Felix, Ebenda. 1918. No. 1. — Starkenstein u. Zitterbart, Ebenda. 1918. No. 50. — Werner u. Leonenau, München. med. Wochenschr. 1918. No. 49. — Kreuscher, Berlin. klin. Wochenschr. 1918. No. 16. — Croner, Wien. klin. Wochenschr. 1917. No. 27. — Elias, Ebenda. 1918. No. 11. — Schaeffer, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 63. H. 6. — Braun u. Salomon, Ebenda. Bd. 81. 1918. S. 20. — Dienes, Deutsch. med. Wochenschr. 1919. No. 1. — Beniasch, Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 12. 1912. S. 280. — Elkeles, Med. Klin. 1919.

Nachdruck verboten.

Bakteriologische Untersuchungsergebnisse der Mannheimer Ruhrepidemie Juli bis November 1917.

[Aus dem Pathologischen Institut der Mannheimer städtischen Krankenanstalten (Prosektor Dr. Loeschcke).]

Von **Ilse Lauber,** Medizinalpraktikantin.

Mit 2 Figuren im Text.

In den ersten Julitagen 1917 traten in einem Stadtviertel mit gedrängtwohnender, ärmerer Bevölkerung nacheinander mehrere Fälle schwerer Ruhr auf. Als Erreger wurde der Shiga-Kruse-Bazillus festgestellt. Eine gemeinsame Quelle der Ansteckung konnte nicht nachgewiesen werden. Mannheim war bisher frei von gehäuft auftretender Ruhr; ab und zu wurden in den Vorjahren vereinzelte Fälle von leichter Ruhr beobachtet, die auf Infektion durch Flexner- und Y-Bazillen zurückzuführen waren.

Der 1. Fall von Shiga-Kruse-Ruhr wurde von uns Ende Juni, etwa 8 Tage vor den gehäuften späteren, bei einem zugereisten, alten Manne festgestellt. Er wohnte jedoch in einem anderen Stadtteil, und ein Zusammenhang zwischen ihm und den später Erkrankten war nicht nachzuweisen.

Gleichzeitig mit den ersten Ruhrfällen der Zivilbevölkerung wurde in unserem Krankenhause eine Reihe von Soldaten an leichter Ruhr behandelt mit Flexner-Bazillen als Erreger. Diese kleine Epidemie verlief anfangs unbeeinflußt von den Erkrankungen der Zivilpersonen; erst bei der weiteren Ausbreitung der Shiga-Kruse-Ruhr kamen auch solche Fälle vereinzelt unter den Soldaten vor.

Im Laufe des Juli häuften sich die Aufnahmen von Ruhrkranken rapid; am Ende des Monats war ihre Zahl auf 266 gestiegen. Zeichnete man die Wohnungen der Erkrankten im Mannheimer Stadtplan ein, so ergab sich, daß die Seuche von Haus zu Haus derselben Straße anfangs sich ausgebreitet hatte und von diesem ausgedehnteren Herd erst in andere Stadtviertel verschleppt wurde. Wir hatten es im Beginn also mit einer typischen, kettenförmigen Kontaktinfektion zu tun. Dieser Ausbreitungsmodus änderte sich bei weiterer Ausdehnung der Epidemie, die im August ihren Höhepunkt erreichte. Die gesamte innere Abteilung des Krankenhauses war fast ausschließlich mit Ruhrkranken belegt; da zeigte ein Blick auf den Stadtplan, in den neue Krankheitsherde eingezeichnet wurden, einen überraschenden Zusammenhang zwischen Ruhrsammelstelle und Ruhrverbreitung. Rings um das Krankenhaus nämlich, das inmitten der Stadt in bisher ruhrfreiem Viertel gelegen ist, tauchten nun in beträchtlicher Zahl neue, kleine Ruhrherde auf, trotzdem das Krankenhaus für Besucher gesperrt war. Es erkrankten Personen, die keinerlei Beziehungen zum Krankenhause hatten. Für diese neuen Herde fand sich nur eine Erklärung: Uebertragung der Krankheitserreger durch Fliegen. Der Verdacht der Verschleppung der Ruhrbazillen durch Fliegen findet sich überall in der Literatur ausgesprochen 1). Selten hatte sich die Fliegenplage in Mannheim so unangenehm bemerkbar gemacht wie im vergangenen Sommer 1917 2). Fliegenschutz hatten nur wenige unserer Fenster. Die Möglichkeit der Fliegenübertragung prüfte ich auf Veranlassung von Direktor Volhard durch einen einfachen Versuch: im Kinderzimmer, wo die Fliegen reichlich Gelegenheit hatten, sich auf den Windeln und der Bettwäsche der schwerkranken Kinder mit ihren unzähligen Stühlen zu infizieren, wurde eine Fliege mit desinfizierten Händen gefangen. Wir ließen sie nach Entfernung der Flügel $^1/_2$ Std. lang bei Zimmertemperatur auf einer Drigalski-Platte umherkriechen; danach strich ich die von der Fliege infizierte Platte wie eine Stuhlplatte aus. Sie zeigte nach 24-stünd. Wachstum etwa $^1/_2$ Dutzend Shiga-Kruse-Kolonien neben anderen Stuhlbakterien. Diesen Versuch wiederholte ich noch 2mal mit positivem Erfolg und fand ihn nachträglich in der Literatur auch von anderen Beobachtern bestätigt 3).

„Daß eine rein mechanische Uebertragung von Ruhrbazillen aus Ruhrfäzes durch Fliegen möglich ist, hat A. Auché gezeigt, der den bekannten Versuch von Ficker mit Ruhrbazillen wiederholte und so nachweisen konnte, daß Fliegen noch 6 Std., nachdem sie auf ruhrbazillenhaltigen Fäzes oder Reinkulturen von Ruhrbazillen gesessen hatten, lebensfähige Ruhrkeime an ihren Beinen und ihrem Rüssel hatten.

---

1) v. Starck, W., München. med. Wochenschr. 1916. S. 1793.

2) Klemperer, G. und Dünner machten dieselben Beobachtungen für Berlin. (Ther. d. Gegenw. 1917. S. 313.)

3) Zitiert nach O. Lentz: Dysenterie. (Handb. f. path. Mikroorg. von Kolle und v. Wassermann. Bd. 3. Kap. XIII. S. 976.)

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Ebenso konnte Galli-Valerio an Fliegen, welche auf Ruhrfäzes gesessen hatten, die gleichen Ruhrbazillen nachweisen, die er bei den Kranken der betreffenden Epidemie gefunden hatte."

Für die Isolierung von Ruhrkranken ergibt sich also nach unseren Erfahrungen der Rat, möglichst freiliegende Gebäude zu benützen und sämtliche Fenster mit Fliegenschutz zu versehen. Beobachtet man nämlich, wie die Fliegen scharenweise auf allen erreichbaren Lebensmitteln sich niederlassen, wird man nach unseren und den zitierten Versuchen nicht mehr zweifeln an dem Kausalzusammenhang zwischen Ruhrfäzes-Fliegen-Lebensmitteln-oraler Infektion. Im Gegensatz zu Benecke (München. med. Wochenschr. 1917. S. 1277), der für einen analen Infektionsmodus eintritt, sind wir mit O. Lentz der Ansicht: „die Aufnahme der Ruhrbazillen seitens der Gesunden erfolgt wohl ausnahmslos per os. Wie Simon treffend bemerkt, handelt es sich bei der Ruhrinfektion im wahrsten Sinne des Wortes um eine „orale Kotinfektion". Als konkretes Beispiel einer oralen Infektion hat Loeschcke einen Fall gesehen, in dem eine Selbstinfektion per os mit einem Laboratoriumsstamm vorgenommen wurde, die eine schwere Ruhr zur Folge hatte.

Im Laufe unserer Epidemie waren 1183 Personen teils als ruhrkrank, teils als nur ruhrverdächtig in das Krankenhaus eingewiesen worden. Die graphische Darstellung gibt die Verteilung der Krankenhausaufnahmen auf die einzelnen Monate an. Sie zeigt ein promptes Sinken der Krankenzahl gegen Anfang November. Er hat nur noch vereinzelte Fälle aufzuweisen. Dieses typisch rasche Erlöschen der Epidemie erklären wir uns aus dem Verschwinden der Fliegen bei Eintritt kühlerer Witterung. Eine gewisse Rolle mag dabei auch die mangelnde Krankheitsdisposition spielen, die in den heißen Sommermonaten durch mancherlei Darmstörungen sicher gegeben ist. Keinesfalls aber kommt die von manchen Autoren zur Erklärung herangezogene angebliche Kälteempfindlichkeit der Ruhrbazillen in Betracht, da die Ruhrbazillen gegen Kälte ziemlich resistent sind, wie wir später zeigen werden.

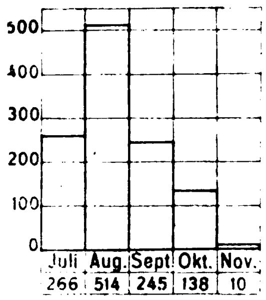


Fig. 1.

Zur bakteriologischen Untersuchung wurden dem Laboratorium 1041 Stühle und 833 Blutproben zugewiesen.

Einige technische Bemerkungen zur Stuhluntersuchung sind vorauszuschicken. Nachdem anfangs die Ergebnisse zahlreicher Stuhluntersuchungen recht unbefriedigend waren, entnahm ich auf Rat von Herrn Direktor Volhard persönlich die Stuhlproben auf den einzelnen Abteilungen, um sie sofort nach der Entnahme zu verarbeiten. Der Unterschied in den Resultaten war auffallend und bestimmte uns, die Methode des „Stuhlsammelns" während der ganzen Epidemie beizubehalten. R. Hamburger (Berlin. klin. Wochenschr. 1917. S. 555) machte dieselben Erfahrungen, und schreibt über die Aenderung der Stuhlbearbeitung: „sie wirkte, wie das ‚Sesam öffne dich'". Zur Kultur benutzten wir ausschließlich Drigalski-Agar; vom Kristallviolettzusatz sah ich, nachdem wir ihn anfangs vermieden hatten, keinerlei Beeinträchtigung des Wachstums oder der Differenzierung. Um Agar möglichst zu sparen, wurde in jedem Falle für die 1. Platte regenerierter Nährboden nach den Angaben Baerthleins verwendet (München. med. Wochenschr. 1917. S. 465) und auf seine Empfehlung seither für alle in Betracht kommenden Zwecke Fleischbrühe nach Hottingers Verfahren, nach dem aus 1 kg Fleisch 20 l Nährbouillon hergestellt werden können (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 67. S. 205).

Die Platten, die täglich frisch gegossen wurden, trockneten wir kurze Zeit im Brutschrank. Im Deckel der 1. Platte — falls er genug Kondenswasser enthielt, sonst in wenig Kochsalzlösung — wurde eine blutig-schleimige Flocke des Ruhrstuhls gründlich ausgewaschen, danach auf den Platten verteilt. Wir kamen mit 2 Platten von normalem (8½ cm) Durchmesser für jeden Stuhl aus und erhielten mustergültige Isolierung der Kolonien dadurch, daß wir das Ausstreichröhrchen [1] ganz kurz im Deckel der 2. Platte hin und herlaufen ließen, also den Deckel an Stelle der sonst üblichen mittleren Platte benutzten.

Von den 1041 untersuchten Stühlen stammten 177 von Patienten, die klinisch keine Ruhrerscheinungen zeigten. Aus den übrigen 864 Stuhlproben wurde 323mal der Shiga-Kruse-Bazillus gezüchtet; in 47 Fällen fand sich ein Stäbchen, das wir nach der Lentzschen Einteilung als Flexner-Bazillus bezeichneten.

Bazillenbefund	Zahl der Fälle	Proz.
Shiga-Kruse	323	37
Flexner	47	5
Zusammen	370	43
negativ	494	
Gesamtzahl	864	

Es unterschied sich von Shiga-Kruse-Bazillen durch die Agglutination mit spezifischem Serum; im Kulturverfahren durch die Fähigkeit, Indol zu bilden, endlich durch Säurebildung auf Mannit- und Maltoseplatten.

Fast in allen positiven Fällen waren die Ruhrbazillen massenhaft gewachsen; häufig fanden sie sich in Reinkultur auf den Platten. Auf diese massenhafte Bazillenausscheidung in den ersten Krankheitstagen führt Th. Fürst die starke Ausbreitung der Seuche zurück (München. med. Wochenschr. 1917. S. 693). Unsere Stühle stammten in weitaus überwiegender Zahl aus den 10 ersten Krankheitstagen. Aus diesen günstigen Untersuchungsbedingungen erklären sich die einigermaßen befriedigenden Ergebnisse, die 42 Proz. positiver Stuhlbefunde im Verhältnis zu den Resultaten anderer Untersucher darstellen [2]. Den Bedürfnissen der Klinik jedoch genügen diese Stuhlbefunde nicht, besonders, wenn bei einer Epidemie mit verschiedenen Erregern auf Grund der bakteriologischen Diagnose eine spezifische Serumtherapie bestimmt werden soll; denn klinisch Shiga-Kruse-Ruhr von Flexner-Infektionen zu unterscheiden, war nicht möglich. Wohl verliefen die bakteriologisch festgestellten Flexner-Fälle meist leicht, aber denselben gutartigen Verlauf zeigten auch zahlreiche Shiga-Infektionen.

---

[1] Ein kleines Reagenzglas wird in einem größeren sterilisiert; die Kuppe des ersteren dient zum Ausstreichen, wobei Röhrchen und Platte gedreht werden. Nach Benutzung Versenken in Sublimat! Für jeden neuen Fall wird also ein frisches, sicher steriles Ausstreichröhrchen benutzt. Diese Methode lernte ich im Hyg. Inst. d. Univ. Frankfurt a. M. (Prof. M. Neisser) kennen.

[2] Vgl. Friedemann, U., Deutsche med. Wochenschr. 1916. S. 68.

Für die mangelhaften Stuhlresultate finden wir in der Literatur zweierlei Erklärungen. Ein Teil der Autoren schiebt die Mißerfolge auf eine vorhergehende medikamentöse Behandlung. Die durch die Therapie angenommene Schädigung der Ruhrbazillen kommt jedoch für uns kaum in Betracht, da wir meist vor Einleitung der Therapie Stuhl entnehmen konnten. Weit verbreitet ist die andere Ansicht (M. Matthes, München. med. Wochenschr. 1915. S. 1545, Benecke, Ibid. 1917. No. 39), nach der die Ruhrbazillen außerhalb des Körpers infolge Wärmemangels rasch absterben und so dem Nachweis entgehen sollen (W. v. Starck, München. med. Wochenschr. 1916. S. 1733). Einige Autoren schlagen mit Rücksicht darauf vor, den Transport von Stuhlproben in thermosflaschenähnlichen Gefäßen vorzunehmen. Beweise für die den Ruhrstühlen zur Last gelegte Kälteempfindlichkeit fand ich nirgends angeführt. Ich kam bei der Prüfung dieser Frage an 12 Stühlen zu entgegengesetzten Anschauungen.

Die Versuchsanordnung war sehr einfach: Die ruhrverdächtigen, blutig-schleimigen Stühle wurden, nachdem eine Flocke sofort zur Untersuchung gekommen war, in 3 sterile Reagenzgläser verteilt. Dabei wurde darauf geachtet, daß jede der 3 Proben genug von der serösen Flüssigkeit mitbekam, die die Hauptmasse der Ruhrstühle ausmacht, um vor Austrocknung geschützt zu sein. Eins der Röhrchen wurde bei Zimmertemperatur aufbewahrt, das 2. kam in den Brut-, das 3. in den Eisschrank. Nach 24 Std. wurden von den 3 Proben Drigalski-Platten angelegt. Sofort nach ihrer Verarbeitung gab ich die Stühle wieder an ihren bestimmten Platz zurück, um sie jedesmal nach Verlauf von 24 Std. aufs neue zu untersuchen. Die Zusammenstellung der Resultate scheint mir einen nicht zu übersehenden Gegenbeweis zu erbringen gegen die Anschauung, die Abkühlung der Stühle trage Schuld am raschen Absterben der Ruhrbazillen.

Im Gegenteil vertrugen die 11 daraufhin untersuchten Stühle Eisschranktemperatur ausgezeichnet mehrere Tage lang; in den 6 ersten Beobachtungstagen fanden sich nur in 2 Proben keine Ruhrbazillen. Es kam mir nicht darauf an, Grenzwerte festzustellen; stammt doch der späteste positive Befund vom 10. Beobachtungstag! Und zwar fanden sich Ruhrbazillen — es handelte sich jedesmal um den Typus Shiga-Kruse — massenhaft in den 4 ersten Tagen, meist in Reinkultur; erst vom 5. Tage an wurden sie spärlicher. Dieselbe Beobachtung relativer Resistenz gegen Kälte macht Vincent, der nach O. Lentz[1]) schreibt: „Niedrige Temperaturen verzögern das Absterben der Ruhrbazillen“.

Nach tagelangem Stehen bei Zimmertemperatur wurden 9 Stühle untersucht. 3 davon waren nach 24-stünd. Stehen negativ; bei weiteren 3 Stühlen fanden sich nach dieser Zeit noch Ruhrbazillen. Beim 7. Stuhl waren nach 2-tägigem, und beim 8. und 9. Stuhl noch nach 3-tägigem Stehen bei Zimmertemperatur Ruhrbazillen gewachsen.

Die schlechtesten Ergebnisse hat die Beobachtung bei Brutschrankaufbewahrung aufzuweisen. Von 9 untersuchten Stuhlproben der 12 Ausgangsstühle, die bei frischer Verarbeitung sämtlich positiven Befund ergaben, konnten in 5 Fällen nach 24-stünd. Stehen bei 37° Ruhrbazillen nicht mehr nachgewiesen werden. In 2 Proben dagegen fanden sich nach 1 Tag noch Shiga-Bazillen; in 2 weiteren Stühlen waren sie nach

---

1) Lentz, O., Dysenterie, Handb. f. path. Mikroorg. Bd. 3. Kap. XIII. S. 919 u. 920.

2-tägigem Aufenthalt im Brutschrank noch gewachsen. Die Beobachtung der Stühle bei Brutschrank- und Zimmertemperatur wurde erst bei eindeutig negativem Befund aufgegeben.

Ein bestimmter Zusammenhang war bei dieser Art des Vergleiches ersichtlich zwischen dem Verschwinden der Ruhrbazillen und dem Auftreten des Proteus; er erklärt die Mißerfolge der Stuhlkonservierung bei erhöhter Temperatur einigermaßen. In 3 von den bebrüteten Stühlen trat der Proteus nach 24 Std. in Reinkultur auf; 5mal war er nach 1 Tag neben Shiga-Kruse-Bazillen und nach 2 Tagen rein gewachsen; einmal erschien er erst nach 3-tägiger Aufbewahrung des Stuhls bei 37° in Reinkultur. Es sei ausdrücklich betont, daß der Proteus den Shiga-Kruse-Bazillus nicht einfach überwuchert hatte im wörtlichen Sinn, also die ganze Platte etwa mit schmierigem Belag überzogen hätte. Seine Kolonien waren vielmehr gut isoliert, teils scharfrandig gewachsen, teils mit feinen Ausläufern, auf den ersten Blick mit Dysenteriebazillen leicht zu verwechseln. Vom Shiga-Kuse-Bazillus unterschied sich der Proteus durch ein tieferes, klareres Blau, vor allem durch seinen sehr charakteristischen, süßlich-fauligen Geruch. Ruhrserum agglutinierte ihn nicht. Loeffler-Serum wurde von ihm verflüssigt, Traubenzucker von einigen Stämmen vergoren, von anderen nicht angegriffen. Milchzucker ließ er unverändert, in Lackmusmolke bildet er Säure, Milch brachte er nicht zur Gerinnung.

Fassen wir das Ergebnis der bei verschiedenen Temperaturen gehaltenen Stuhlproben zusammen, so finden wir — cum grano salis — auf der einen Seite, bei Aufbewahrung der Stühle im Eisschrank Ruhrbazillen in Reinkultur, auf der anderen Seite, bei 37°, Proteus in Reinkultur. Die Beobachtung der Stühle bei Zimmertemperatur können wir bei dieser Gegenüberstellung vernachlässigen, weil sich ihre Resultate je nach der herrschenden Tagestemperatur nach der einen oder anderen Seite neigen werden. Zur Erklärung dieses merkwürdigen Befundes mag ein Blick auf die mehrere Tage alten Stühle beitragen. Im Eisschrank hielten sich die Proben unverändert im Vergleich zu den frischen Stühlen, fast geruchlos wie diese. Dagegen waren die Stuhlproben nach dem Aufenthalt im Brutschrank sämtlich in eine homogene, schmutzig-graue Brühe umgewandelt mit außerordentlich üblem, fauligem Geruch. Ihre Reaktion war stark alkalisch, doch fanden wir auch frische Stühle und ebenso die „Eisstühle“ alkalisch. Ich vermute, M. Gieszczykiewicz (Med. Klin. 1915. S. 1184) hatte solche, nicht mehr frische, Stühle vor sich, die durch Wärme beeinflußt waren, da er schreibt: „bei schweren und langdauernden Fällen fanden sich häufig neben den Ruhrbakterien Bazillen aus der Proteus-Gruppe im Stuhl. Solche Stühle waren stinkend.“ Es sei in diesem Zusammenhang gestattet, an die stark fauligen, stinkenden Stühle bei Darmparalyse zu erinnern und die Frage zu streifen, ob bei ihrem Zustandekommen der Proteus unter den für ihn günstigen Bedingungen der Kotstauung eine gewisse Rolle spielt.

Eine Erklärung des Befundes:

	37°	faule Stühle	Proteus
und	Eisschrank	gut konservierte Stühle	Ruhrbazillen

bei gleicher Herkunft der Proben muß späteren Untersuchungen überlassen bleiben. Vor allem ist dabei wohl auf die Frage der Reaktion der Stühle, die mit quantitativen Methoden exakt geprüft werden müßte, großes Gewicht zu legen. Auch müßte untersucht werden, ob die fermentative Fähigkeit des Proteus bei der Verdrängung der Ruhrbazillen eine Rolle spielt, und endlich ist an die Möglichkeit einer Antikörperwirkung im Stuhl zu denken, die bei 37° ihre optimalen Bedingungen finden würde.

Für die Praxis der Stuhleinsendung aber muß nach den Resultaten der Eis- und Brutschrankstühle für längere Transportzeiten kühle Verpackung, und, wo sofortige Verarbeitung nicht möglich ist, Aufbewahrung im Eisschrank empfohlen werden.

Wo die Stuhluntersuchung versagte, wurde die Agglutinationsprobe mit Patientenserum zur Sicherung der Diagnose herangezogen. Bei der Agglutination von Ruhrbazillen spielt der Alkaleszenzgrad des Agars, der zu ihrer Züchtung verwendet wird, eine große Rolle. Auf nicht genügend alkalischem Agar wachsen die Dysenteriebazillen spröde und geben in Kochsalz keine homogene Aufschwemmung: vielmehr zeigen sie Neigung zur Zusammenballung und bieten so schon beim Zusatz der Kultur zum Kochsalz das Bild grobflockiger Agglutination. Um solche Zwischenfälle zu vermeiden und um Zeit zu sparen, arbeiteten wir ausnahmslos mit Bouillonmischkulturen. Mit 5 frisch gezüchteten Shiga-Kruse-Stämmen beimpften wir ein Bouillonkölbchen von 200 ccm Inhalt, ein 2. Kölbchen mit 5 Flexner-Stämmen. Nach 24-stünd. Wachstum bei 37° wurden die Bouillonkulturen mit je 2 ccm einer 40-proz. Formollösung versetzt und blieben danach noch 48 Std. im Brutschrank. Jede frisch angesetzte Mischkultur — sie reichte etwa 1 Woche aus — wurde mit Testserum auf Agglutination vor der Verwendung geprüft. Sie zeigte keinerlei Unterschied gegen Kochsalzaufschwemmung frischer Kulturen. Sämtliche Agglutinationen setzten wir im Reagenzglas an in Verdünnungen 1:40—1:640, wobei auf je 0,5 ccm der Serumverdünnung 0,5 ccm Mischbouillon kamen. Nach 20—24-stünd. Aufenthalt bei 37° wurden die Resultate makroskopisch abgelesen. Nach Paltauf[1]) verläuft die Ruhragglutination langsam, sie ist bei Shiga-Kruse nach Haendel erst nach 24 Std. beendet. Positiv werteten wir nur deutlich grobflockige Agglutination, und zwar von der Verdünnung 1:80 an.

Unter den 833 eingesandten Blutproben agglutinierten die Sera 413mal Shiga-Kruse-Bazillen, 72mal Flexner-Bazillen. Die Reaktion war in 348 Fällen negativ. 441 Blutuntersuchungen wurden zur Ergänzung der Stuhlresultate vorgenommen, die übrigen 392 stammen von Patienten, deren Stuhl nicht untersucht worden war. In 155 Fällen wurde durch die Blutprobe der vorausgegangene Bazillenbefund bestätigt. 154mal ergab bei negativem Stuhlbefund erst die Blutuntersuchung eine bakteriologische Diagnose, und 103 Sera waren negativ, wo auch die Stuhluntersuchung keine Bazillen hatte nachweisen können. Dagegen zeigten 29 Patienten mit positivem Bazillenbefund im Stuhl negativen Widal.

In manchen diesen Fällen hätte vielleicht eine wiederholte Blutuntersuchung noch positiven Widal ergeben, wie nach später zu schildernden Beobachtungen über zeitliche Schwankungen in der Agglutination anzunehmen ist.

Die Verteilung der positiven Resultate auf die verschiedenen Krankheitstage ist für einen Teil der Fälle aus folgender Tabelle ersichtlich:

---

[1]) **Paltauf**, R., Die Agglutination. (Handb. d. path. Mikroorg. Bd. 2, 1. Kap. 6. S. 553.)

Krankheitstag	Serumverdünnung				Summe		Negativ	
	80	160	320	640[1])		Proz.		Proz.
3.—6.	17	6	2	1	26	5,2	57	11,6
7.—10.	28	25	28	5	86	17,5	70	14,7
11.—15.	17	31	13	7	68	13,8	40	8,1
16.—20.	13	13	20	4	50	10,2	15	3,0
21.—30.	12	14	17	4	47	9,5	7	1,4
31.—80.	4	8	5	1	18	3,6	7	1,4
Summe 491	91	97	85	22	295		196	

Sie umfaßt 491 Sera, bei denen mir die Krankheitstage bekannt waren. A priori nahmen wir an, der Widal sei von der 2. Woche an positiv zu erwarten. Ein kleiner Teil der Patientensera agglutinierte aber bereits in den ersten 6 Krankheitstagen. Diesen frisch agglutinierenden 26 Fällen stehen 11 Sera einer späteren Zusammenstellung gegenüber, die in den 6 ersten Krankheitstagen negativ waren, in der 2. und 3. Woche aber positive Reaktion gaben. In die 2. Krankheitswoche fällt nach unserer Tabelle der Hauptanteil der untersuchten Blutproben, infolgedessen finden sich hier die günstigsten Befunde, die demnach nur relativ gewertet werden können.

Die Frage, wie der Agglutinationstiter desselben Patienten im Laufe der Zeit sich verhält, wurde an einer Reihe von 50 Kranken untersucht. Ihr Serumprüften wir 2—3mal, manchmal 4 und 5mal, in kleineren oder größeren Zwischenräumen:

gleichbleibenden Titer zeigten 3 Patienten zwischen 18. und 70. Tag
ansteigenden „ „ 24 „ „ 4. „ 43. „
sinkenden „ „ 23 „ „ 8. „ 53. „

Aus dieser Beobachtungsreihe stammen die oben angeführten 11 Sera mit negativem Widal in den ersten 6 Tagen, der in der 2. und 3. Woche positiv wurde. In der 2. Woche waren noch negativ 6 Sera, die später erst positiven Widal zeigten. Andererseits wurde unter den absteigenden Titern ein Serum bereits am 15. Tage negativ, das am 9. Tag Ruhrbazillen bis 1 : 640, am 12. Tage noch bis 1 : 160 agglutiniert hatte. Ein anderes Serum mit positivem Widal am 17. und 21. Krankheitstag war bereits am 23. Tage negativ.

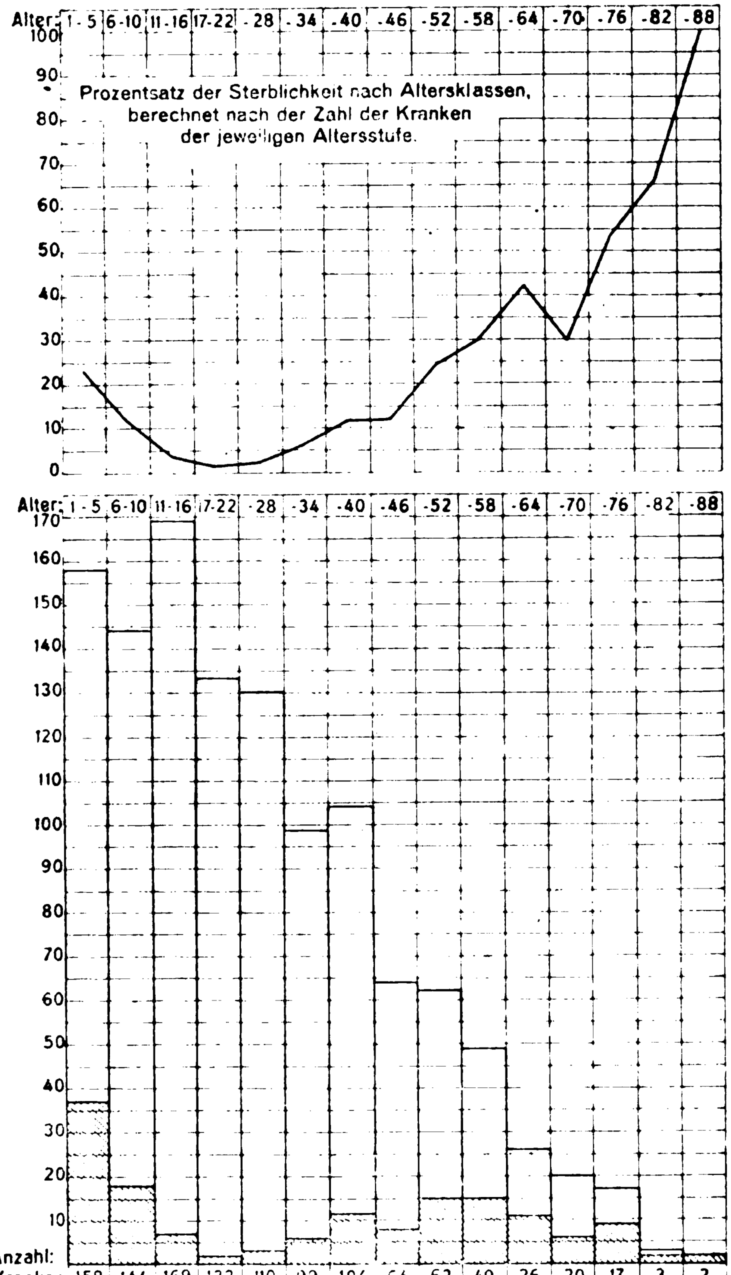
Unsere Beobachtungen lassen also für das Auftreten und Verschwinden der Ruhragglutinine keinerlei Gesetzmäßigkeiten erkennen. Ihre individuellen Schwankungen machen es empfehlenswert, sich mit einmaliger Blutuntersuchung nicht zu begnügen, sondern bei negativem Widal in der 1. Krankheitswoche die Reaktion in der 2. event. 3. Woche zu wiederholen.

Ebensowenig konnte ein Zusammenhang zwischen der Höhe des Agglutinationstiters und dem klinischen Verlauf beobachtet werden. Schwer verlaufende Fälle zeigten bald hohen Agglutinationswert, bald niederen; bei leichten Erkrankungen waren Fälle mit stark positivem Widal zu finden, andere mit geringer Agglutination. Prognostisch ist also dem Ruhrwidal keinerlei Bedeutung beizumessen und eine quantitative Wertung des Agglutinationstiters bei der Ruhr kann für die Praxis nicht in Betracht kommen. Doch wird der Wert der Reaktion dadurch

---

1) Die Verdünnung 1 : 640 wurde erst etwa in der 2. Hälfte der Epidemie angesetzt.

nicht beeinträchtigt. Sie hat sich uns auch zur Unterscheidung der säurebildenden Ruhrerreger vom Shiga-Kruse-Bazillus durchaus bewährt.



d. Kranken	158	144	169	133	110	99	104	64	62	49	26	20	17	3	2
d. Toten	37	18	7	2	3	6	12	8	15	15	11	6	9	2	2
„ %	23.4	12.5	4.1	1.5	2.3	6.0	11.5	12.5	24.2	30.7	42.3	30	53	66.6	100

Fig. 2.

Der Agglutinationstiter wurde durch passive Immunisierung, auch mit großen Serumgaben, nach unserer Erfahrung nicht beeinflußt. Es bleibt noch zu erwähnen, daß wir bei Gesunden die Agglutinationsprobe stets negativ fanden, so daß wir keinen Grund haben, an ihrer Spezifität zu zweifeln, solange man nur grobkörnige Agglutination berücksichtigt.

Auf Agglutination untersuchte ich auch einen Teil der Leichensera, für deren Ueberlassung ich Herrn Prosektor Dr. Loeschcke zu großem Dank verpflichtet bin. Sein Sektionsmaterial umfaßt 153 Fälle. Die Sterblichkeit von 12,9 Proz. mag als Beweis gelten für die Schwere unserer Epidemie. Aus folgender graphischer Darstellung ist der Anteil der verschiedenen Altersstufen an den Todesfällen zu ersehen und sein Verhältnis zu der Krankenzahl desselben Alters.

Die absolut größte Sterbeziffer erreichte nach ihr das Kindesalter bis zum 5. Lebensjahr. Aber verglichen mit der Zahl der am Leben gebliebenen Kinder ergibt sich ein Prozentsatz, der hinter dem der höheren Altersklassen zurückbleibt. Die beste Prognose ist für das mittlere Alter bis zur Hälfte der 40er Jahre zu stellen. Vom 46. Jahr an aufwärts zeigte die Kurve (Fig. 2) der „relativen" Sterblichkeit einen steilen, nur einmal bei 65—70 Jahren unterbrochenen, Anstieg. Unter 121 Verstorbenen, bei denen die angewandte Therapie bekannt war, waren 58 mit Serum behandelt worden, und zwar mit Dosen von 60—200 ccm. 63 der 121 zum Exitus gekommenen Patienten mit bekannter Therapie hatten kein Serum bekommen. Ueber den Wert der Serumtherapie Schlüsse zu ziehen, gestatten diese Zahlen nicht. Wie mir von den Klinikern bekannt ist, gelangten auch sie im Verlauf der Epidemie nicht zu einem unbedingt gültigen Urteil in der Serumfrage. Doch glauben sie, von der Serumanwendung bestimmt Erfolg gesehen zu haben in Fällen, bei denen es sofort nach Erscheinen der ersten Krankheitszeichen gegeben wurde.

Die Obduktion ergab bei 30 Proz. der Todesfälle Komplikationen. 32mal waren sie von seiten der Lungen, der Nieren oder des Bauchfells zur Ruhr hinzugetreten; in 14 Fällen hatten sich bereits vorher mit irgendwelchen Leiden behaftete Personen mit Ruhr infiziert. Der Tod trat in der überwiegenden Zahl der Sterbefälle innerhalb der 3 ersten Wochen ein, nach der 4. Krankheitswoche nur in 3,3 Proz. sämtlicher Todesfälle.

Bei einem Teil der Verstorbenen war der Erreger bereits während des Lebens festgestellt worden; bei den übrigen der untersuchten Leichen stellte der Widal, mit wenigen Ausnahmen, den Shiga-Kruse-Bazillus nachträglich als Erreger fest. Nur 2 Todesfälle waren auf Flexner-Infektionen zurückzuführen; bei einem Patienten hatten wir während des Lebens Flexner-Bazillen im Stuhl gefunden, im anderen Falle agglutinierte das Leichenserum Flexner-Bazillen.

Wir setzten 79mal mit Leichenserum Agglutinationsproben an. Darunter fanden wir 13 negative bei typischen pathologischen Darmveränderungen. Für 7 dieser 13 Fälle mag der Todestermin für den Nachweis der Agglutinine zu früh gewesen sein, für 1 zu spät. Die übrigen 5 bestätigen die auch bei Lebenden gemachte Erfahrung, daß ein kleiner Prozentsatz sicher an Ruhr Erkrankter keine Agglutinationsreaktion gibt. Nur in 15 Fällen stehen uns Resultate zur Verfügung, wo wir vor und nach dem Tode des Patienten Agglutinationen ansetzten; eine Gegenüberstellung der Titer intra vitam und post mortem zeigt 5mal eine Uebereinstimmung der beiden, in 7 Fällen ein Sinken nach dem Tode, 3mal ein Ansteigen.

Diese kleine Beobachtungsreihe erlaubt keine bindenden Schlüsse zu ziehen, eher ermutigt sie dazu, jede Gesetzmäßigkeit zu leugnen.

Um Einblick in das Vorkommen von Agglutininen in anderen Körperflüssigkeiten als im Blutserum zu gewinnen, untersuchte ich auf Ver-

Krankheitstag	Titer im Leben		Titer p. mort.	Todestag	Zeitliche Differenz
5.	0	<	320	9.	4 Tage <
9.	40	>	0	41.	35 „ >
6	160	=	160	13.	4 „ =
11.	160	>	20	17.	6 „ >
12.	320	=	320	20.	8 „ =
13.	160	=	160	29.	16 „ =
13.	160	>	40	21.	8 „ >
13.	40	>	0	18.	5 „ >
14.	80	<	160	41.	27 „ <
16.	320	>	160	36.	20 „ >
16.	0	<	80	25.	9 „ <
19.	160	>	80	29.	10 „ >
19.	80	<	320	21.	3 „ <
28.	160	=	160	41.	13 „ =
36.	320	=	320	41.	5 „ =

= unveränderter Titer, > sinkender Titer, < steigender Titer.

anlassung von Herrn Dr. Loeschcke bei einer Reihe von Leichen neben dem Blut auch Peritoneal- und Pleuraexsudat, Perikard- und Cerebrospinalflüssigkeit, in 2 Fällen außerdem Kammerwasser, in 1 Fall Oedemflüssigkeit, in einem eiweißhaltigen Urin, der postmortal der Blase entnommen war.

Die Untersuchungsergebnisse sind in folgender Tabelle zusammengestellt:

Krankheitstag	Blut	Periton.	Perikard	Pleura	Lumbal	Kammerwasser	
2.	80	—	0	—	—	—	
3.	0	0	—	—	—	—	
4.	0	—	0	—	—	—	
5.	160	20	0	—	0	—	
6.	640	160	0	40	0	—	
6.	160	80	0	—	0	—	
7.	40	—	0	—	—	—	
7.	160	—	0	—	0	—	
8.	640	640	0	—	—	—	
8.	40	**160**	0	—	—	—	
9.	640	320	0	—	0	—	
9.	320	320	0	—	—	—	
10.	40	0	0	—	—	—	
10.	160	**320**	0	—	0	—	
10.	—	640	160	—	0	20	
15.	640	320	—	—	—	—	
17.	20	**320**	40	—	—	—	
19.	80	40	0	40	0	—	
36.	160	**320**	20	160	0	—	
41.	320	320	0	320	—	—	Oedemflüssigkeit 20, Urin 20
41.	160	80	—	20	0	—	
41.	80	0	—	—	—	—	
47.	160	—	0	—	—	—	
75.	80	80	0	—	0	0	
?	160	160	0	—	0	—	
?	160	160	+	—	—	—	
?	320	**640**	0	—	0	—	
?	40	0	—	—	—	—	

Mit Ausnahme von 1 Falle, der Flexner-Bazillen agglutinierte, handelt es sich überall um Shiga-Kruse-Agglutinationen. Als positiv wurde auch hier nur deutlich grobflockige Zusammenballung bezeichnet; die Technik war die oben geschilderte.

Ueberraschend wirkt in unserer Tabelle die Verschiedenheit des Titers in den einzelnen Flüssigkeiten; ganz besonders auffallen aber muß die in manchen Fällen stärkere Agglutinationskraft des peritonealen Exsudats im Verhältnis zu der des Blutserums. Eine Erklärung dieses Befundes muß systematischer Untersuchung vorbehalten bleiben.

Ein absolutes Fehlen von Agglutinationsstoffen in der Lumbalflüssigkeit wäre in Parallele zu setzen mit Leschkes und Pincussohns Beobachtung, die einen Uebertritt von Fermenten aus dem Blut in den Liquor nie feststellen konnten (Deutsche med. Wochenschr. 1917. S. 8). Systematische Tierversuche wären wohl geeignet, die Frage nach dem Verhalten der Agglutinine in sämtlichen Körperflüssigkeiten zu klären; leider mußte ich sie mir bisher versagen, wie auch die Untersuchung unseres Materials auf alle übrigen Schutzstoffe aus äußeren Gründen unterbleiben mußte.

Anfänglich glaubte ich, in dem verschieden hohen Eiweißgehalt der entzündlichen und nicht-entzündlichen Ex- und Transsudate die Ursache ihres verschiedenen Agglutinationstiters suchen zu müssen; doch sprach dagegen die Beobachtung, daß eitrige, stark eiweißhaltige Exsudate schlecht agglutinierten im Verhältnis zu weniger eiweißreichen.

Nach der Untersuchung von Ex- und Transsudaten lag es sehr nahe, das unmittelbare Reaktionsprodukt der Infektion, die schleimig-serösen Darmabsonderungen selbst auf Anwesenheit von Agglutininen zu prüfen. Nach kurzem Stehen im Eisschrank setzte sich aus den Stuhlproben meist über den Flocken des Bodensatzes klare, serös-schleimige Flüssigkeit ab, die ich an Stelle des Serums beim Widal verwendete. Kontrollen mit Stuhl-Kochsalzverdünnung und Kultur-Kochsalzverdünnung waren immer einwandfrei klar. Eine Reihe von 24 frischen Stühlen untersuchte ich nach dieser sehr primitiven Methode. Die Ergebnisse können durchaus keinen Anspruch auf Eindeutigkeit erheben, so daß ich von ihrer Veröffentlichung absehen kann. Bedenklich muß vor allem das unsterile Material machen, mit dem ich zu arbeiten hatte. Um diesem Mißstand abzuhelfen, filtrierte ich die Stühle erst durch Nutschen, danach durch Berkefeld-Kerzen und erhielt so eine klare, keimfreie Flüssigkeit, die jedoch die Fähigkeit zu agglutinieren vollkommen verloren hatte. Für diese Resultate möchte ich die durch die Filtration bedingte Aenderung in der Eiweißstruktur der schleimig-serösen Stuhlmassen verantwortlich machen, muß aber den Beweis für diese Auffassung späteren Versuchen überlassen. Für Meerschweinchen war das Filtrat bei intraperitonealer Injektion nicht giftig, das Tier zeigte keinerlei Reaktion auf die Impfung; ebensowenig reagierte ein Hund auf direkte Einspritzung eines solchen Stuhlfiltrats ins Coecum nach Laparotomie (Loeschcke).

Ob man durch chemische Mittel ohne Schädigung der in Frage stehenden Schutzstoffe zu sterilem Stuhlmaterial gelangen kann, muß späteren Versuchen vorbehalten bleiben. Die Frage: ist eine örtliche Schutzreaktion am Angriffspunkt der Schädigung nachweisbar? wird sich freilich mit der Untersuchung sämtlicher in Betracht kommender Immunkörper beschäftigen müssen. Der Nachweis der Agglutination lag für den Anfang seiner einfachen Technik wegen nahe. Die äußeren Umstände waren unseren Absichten insofern ungünstig, als wir auf der Höhe der Epidemie unser reiches Material aus Zeitmangel nicht zu Versuchszwecken ausnützen konnten, dagegen ohne Stuhlmaterial waren, als wissenschaftliche Fragen hätten bearbeitet werden können. Im Tierversuch den oben gestellten Fragen nachzugehen, verbot der Mangel an Tieren.

Zusammenfassung.

1) In 42 Proz. der 864 Stuhlproben ergab die bakteriologische Untersuchung positive Resultate, davon in 37 Proz. Shiga-Kruse-Bazillen, in 5 Proz. Flexner-Bazillen.

2) Für die Ausbreitung der Ruhr ist die Uebertragung durch Fliegen mitverantwortlich zu machen und zu bekämpfen.

3) Es empfiehlt sich für längerdauernden Transport ruhrverdächtiger Stühle kühle Verpackung und, wo sofortige Verarbeitung nicht möglich ist, Aufbewahrung im Eisschrank; aus solchen Stühlen ließen sich noch nach 6—10 Tage langem Stehen bei Eisschranktemperatur Ruhrbazillen nachweisen, während sie bei Aufbewahrung bei Brutschrank- und Zimmertemperatur früher verschwanden und an ihrer Stelle sich Proteus fand.

4) Zur Ergänzung der Stuhluntersuchungen hat sich uns der Ruhrwidal bewährt, der nur bei grobflockiger Agglutination als positiv betrachtet wurde. Doch ist sein negativer Ausfall nicht als unbedingt beweisend anzusehen. So hatten wir in 3,4 Proz. der 833 Blutproben negativen Widal bei positivem Bazillenbefund im Stuhl; ferner agglutinierten 13 Leichensera unter den untersuchten 79 Todesfällen Ruhrbazillen nicht, trotz typischer pathologischer Darmveränderungen. Im zeitlichen Ablauf der Agglutinationsbildung ließen sich Gesetzmäßigkeiten nicht erkennen. Schwankungen im Verlauf der Agglutinationskurve machen es empfehlenswert, bei negativem Widal in der 1. Krankeitswoche die Reaktion in der 2. event. 3. Woche zu wiederholen.

5) Das Peritonealexsudat von Ruhrleichen, die nach dem 8. Krankheitstage gestorben waren, gab in einigen Fällen einen höheren Agglutinationstiter als das Leichenblutserum desselben Falles. Einen andern Titer als das Blutserum zeigten auch meist die übrigen daraufhin untersuchten Ex- und Transsudate der Leichen.

Herrn Prosektor Dr. Loeschcke bin ich für sein lebhaftes Interesse an dieser Arbeit und für seine wertvollen Anregungen zu großem Dank verpflichtet.

Nachdruck verboten.

Ueber gramnegative Mikrokokken als Erreger einer Panophthalmie.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Bonn (Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. R. O. Neumann).]

Von Dr. **F. W. Bach,** Assistent am hygien. Institut in Bonn.

Gramnegative Mikrokokken haben, außer den beiden wichtigsten Vertretern, dem Micr. meningitidis und Micr. gonorrhoeae, in der menschlichen Pathologie nur eine geringe Bedeutung. Diese liegt bekanntlich auf differentialdiagnostischem Gebiete, wenn es sich darum handelt, die beiden erwähnten Krankheitserreger gegen mehr oder weniger nahe Verwandte abzugrenzen. Immerhin sind aber in der Literatur die Beschreibungen einer Reihe von Fällen niedergelegt, in denen andere gramnegative Mikrokokken als die Erreger von Meningitis und Gonorrhöe Krankheitsprozesse beim Menschen ausgelöst haben. Ist auch die pathogene Bedeutung dieser Organismen nur ephemerer Natur, so verdient sie doch vom klinischen wie auch vom bakteriologischen Standpunkte Beachtung. Aus diesen Gründen mögen folgende Beobachtungen mitgeteilt werden, die ich an einem gramnegativen Micrococcus zu erheben Gelegenheit hatte, der sich in einem Falle von Panophthalmie im Anschluß an eine Operation vorfand. Dieser Fall, bei dem die bakteriologische Untersuchung das im folgenden geschilderte, etwas ungewöhnliche, Ergebnis hatte, war auch klinisch insofern von Interesse, als von augenärztlicher Seite[1]) betont wurde, daß hier zum ersten Male eine postoperative Infektion des Augeninnern mit einem gramnegativen Micrococcus vorliege.

Nach der mir freundlichst zur Verfügung gestellten Krankengeschichte handelte es sich um einen 55-jährigen Mann (Fr. Sp.), bei dem auf dem linken Auge eine Netzhautablösung bestand. Zwecks operativer Behandlung wurde nach der in der hiesigen Augenklinik üblichen Vorbehandlung des Bindehautsackes mit Optochin am 8. Nov. 1919 das subretinale Exsudat[2]) abgesaugt und in den Glaskörper Ringersche Lösung eingespritzt. 2 Tage später, am 10. Nov., bot das operierte Auge alle Zeichen einer Panophthalmie. Die von augenärztlicher Seite angestellte Untersuchung des nur gering vorhandenen Bindehautsekretes ergab außer einigen Xerosestäbchen keine Anwesenheit besonderer Mikroorganismen, vor allem keiner gramnegativen Mikrokokken. Am 11. Nov. wurde durch Punktion die ehemals eingespritzte Ringersche Lösung abgesaugt, die sich schon äußerlich als stark eiterig erwies. Unmittelbar nach der Entnahme wurde diese Flüssigkeit bakteriologisch auf Traubenzuckerascitesplatten verarbeitet.

Die bakteriologische Untersuchung hatte folgendes Ergebnis:

1) Im direkten Ausstrichpräparat der eiterigen Flüssigkeit (Färbung mit Methylenblau) finden sich reichlich Leukozyten und außerordentlich zahlreich Mikrokokken. Diese liegen zum Teil frei, zum

---

[1]) Herr Prof. Stargard, dem ich die Veranlassung zur bakteriologischen Untersuchung des Falles sowie die klinischen Angaben verdanke, wird über die klinische Seite des Falles in der Zeitschr. f. Augenheilkunde berichten.

[2]) Dieses abgesaugte Exsudat konnte nachträglich noch untersucht werden, Mikrokokken wurden nicht gefunden.

Teil sind sie von den Leukozyten phagozytiert, und zwar meistens in erstaunlich großer Menge, so daß Bilder entstehen, die in gewisser Weise an die von Gonorrhöeausstrichen erinnern. Die Organismen finden sich als Einzelkokken, meist aber in Doppel-(Teilungs-)form; sogenannte Tetradenbildung ist aber nicht zu sehen. Kapseln lassen sich nicht nachweisen. Die Organismen sind untereinander nicht gleichmäßig in Form und Größe; neben kleinen Kokken finden sich auch sehr viel größere, neben runden sind auch etwas ovale Formen häufig. Diese Formverschiedenheiten sind wohl durch verschiedenen Ablauf der Teilung zu erklären. Meningokokken- oder Gonokokkenpräparate zeigen im allgemeinen gleichmäßigere Bilder. Von Methylenblaulösung werden die Kokken zum Teil hell, zum Teil dunkel gefärbt. Wichtig ist, daß die Organismen sich einwandfrei nach Gram entfärben.

2) Die Verarbeitung der durch Punktion entleerten eiterigen Flüssigkeit auf Traubenzuckerascitesagarplatten ergibt nach 24 Std. Brutschrankaufenthalt auf allen Platten ein außerordentlich üppiges, zusammenhängendes Wachstum von Organismen längs der Impfstriche; isolierte Kolonien werden in dieser 1. Kultur ganz vereinzelt erhalten, infolge ihres feuchten, etwas schleimigen Charakters. Der Belag zeigt weißlich-graue Färbung (andere Färbung wurde weder auf dieser Kultur noch auf anderen Nährböden, auch nicht nach längerer Zeit, beobachtet). Die mikroskopische Untersuchung ergibt ebenfalls Mikrokokken, überwiegend in Teilungsform, seltener als Einzelorganismen. Sie besitzen, abgesehen von den durch die Teilungsstadien bedingten Verschiedenheiten, ziemlich gleichmäßige Größe, Viererlagerung ist nicht zu beobachten. Auch in Bildern von späteren Kulturen der verschiedenartigsten Nährböden ergeben sich keine wesentlichen Differenzen gegenüber dem der 1. Kultur. Jedenfalls ist das Aussehen der Präparate durchaus verschieden von dem einer Reinkultur von Meningokokken, bei der man die charakteristischen Größenverschiedenheiten der einzelnen Kokken, Verschiedenheiten der Färbbarkeit, Tetradenlagerung usw. findet. Die Mikrokokken dieser (und aller späteren) Kulturen entfärben sich ebenfalls einwandfrei nach Gram (Karbolgentianaviolett 3 Min., Lugolsche Lösung 2 Min., Abspülen mit Alkohol absolutiss.).

Es besteht somit kaum ein Zweifel, daß die in der Kultur erhaltenen gramnegativen Mikrokokken identisch sind mit den im direkten Ausstrichpräparat des Eiters gefundenen Organismen, und daß sie als die Erreger der Panophthalmie anzuschuldigen sind.

3) Weitere bakteriologische Untersuchungen:

Wachstum der Mikrokokken auf Agar-Agar, Glyzerinagar erfolgt ebensogut wie auf Traubenzuckerascitesagar, in meist konfluierendem, feuchtem, etwas schleimigem Belage von grauweißlicher Farbe, ebenso auf Blutagarplatten (keine Hämolyse). Einzelkolonien sind ohne Besonderheiten, rund, mit feingranuliertem Rand. Die Vermehrungsenergie der Organismen ist ganz außerordentlich groß; auf Traubenzuckerascitesagar ist bereits nach 3 Std. bei 37° deutliches Wachstum zu beobachten, bei Zimmertemperatur erfolgt ebenfalls in kurzer Zeit üppiges Wachstum.

Gelatine (bei 20°): üppiger weißer Belag nach 2—3mal 24 Std. Verflüssigung tritt auch nach längerer Zeit (14 Tage) nicht ein.

Bouillon: gleichmäßige Trübung, Indolbildung (nach 8 Tagen) nicht nachweisbar; Eigenbewegung nicht vorhanden.

Traubenzuckeragar: Stichkultur in hoher Schicht ergibt Wachstum auf- und nur kurz unter der Oberfläche entlang dem Stichkanal, ebenso in Schüttelkultur; **keine Gasbildung**.

Lackmusmolke: nach 24 Std. dauernd blau.

Milch: nicht koaguliert.

Anaërobes Wachstum (**Omelianskischer** Apparat): nicht vorhanden.

Agglutination (die Kultur ist leicht verreiblich):

a) mit dem Serum des Patienten: in allen Verdünnungen negativ;

b) mit Meningokokkenimmunserum (Titer 1:600): negativ;

c) Säureflockung in Milchsäure-Laktatgemischen: nicht vorhanden; **Beniasch**[1]) findet bei den von ihm geprüften gramnegativen Kokken (Meningokokken, Gonokokken, Micr. **catarrhalis**) Ausflockung bei verschiedenen H-Konzentrationen.

Verhalten des Stammes auf den v. Lingelsheimschen Nährböden:

Bei wiederholter Prüfung auf den genau nach den Angaben von v. **Lingelsheim**[2]) zusammengesetzten Nährböden ergab sich konstant starke und bleibende Rotfärbung der Galaktoseplatte nach 24 Std.; nicht angegriffen wurden Lävulose, Maltose, Saccharose, Laktose, Inulin, Mannit, Dulzit. Das Verhalten zu Traubenzucker war wechselnd; meist erfolgte nach 24 Std. starke Rotfärbung, die aber im Verlaufe weiterer Beobachtung allmählich schwächer wurde und schließlich der ursprünglichen blauen Färbung des Nährbodens wich. Einmal wurde auch (bei Impfung von der gleichen Ausgangskultur, bei der beim 1. Male starke Rotfärbung zu verzeichnen war) nur schwache Rötung des im übrigen gänzlich gleich angefertigten Nährbodens beobachtet. Das wechselnde Verhalten der Organismen einer Zuckerart gegenüber kann in der Zusammensetzung des Nährbodens begründet sein, in dem es nach Verbrauch der relativ geringen Zuckermenge (1 Proz.) und der hierbei entstehenden Säureentwicklung mit weitergehender Lebenstätigkeit der Organismen zum Abbau des reichlich vorhandenen Eiweißes (abgesehen vom Peptongehalt des Agars ca. 20 Proz. Aszites) kommt und damit verbundener Alkalientwicklung. Diese Beobachtung kann in gewisser Weise die Warnung von **Zeissler** und **Gassner**[3]) vor einer Ueberschätzung der v. **Lingelsheim**schen Nährböden unterstützen, die mit Recht darauf aufmerksam machen, daß für diese Nährböden noch nicht nachgewiesen ist, „daß das Verhältnis Zucker : Eiweiß wirklich das richtige ist, um eindeutige Ergebnisse zu gewährleisten“, und verweisen auf Beobachtungen **Gassners** über das Verhalten der Bakterien der Typhus-**Coli**-Gruppe, „die bei gleichem Zuckergehalt des Nährbodens Säurebildung nur dann zeigen, wenn der Eiweißgehalt kein zu hoher ist“. Bekanntlich ergeben sich ja für Meningokokken mit den v. **Lingelsheim**schen Nährböden Schwierigkeiten, wenn die Maltosevergärung undeutlich ist oder fehlt, so daß ein den Gonokokken gleiches Verhalten den Zuckerarten gegenüber resultiert. **Zeissler** und **Gassner** erwähnen aber auch ferner, daß bei den untersuchten Bakterien „zuweilen innerhalb des gleichen Impfstriches ohne erkennbare Ursache bald eine Rötung, bald ein Ausbleiben derselben beobachtet wurde“.

---

1) **Beniasch**, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Orig. Bd. 12. 1912.

2) v. **Lingelsheim**, Klin. Jahrb. Bd. 15. 1906. S. 410.

3) **Zeissler** u. **Gassner**, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 84. 1917. S. 294.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Die chemische Zusammensetzung des den betreffenden Organismen gebotenen Nährbodens kann also nicht allein die Ursache für das wechselnde Verhalten abgeben, sondern es müssen auch noch individuelle Besonderheiten und Schwankungen innerhalb desselben Bakterienstammes hinsichtlich ihrer Lebensäußerungen vorliegen. Besteht nun auch die Möglichkeit in weitem Umfange, dem Problem in chemischer Hinsicht näherzukommen, so schwindet sie doch recht, wenn es sich darum handelt, die — gleichsam — persönlichen Eigenheiten zu ergründen, wie sie sich in der zuletzt erwähnten Beobachtung von Zeissler und Gassner finden, wo, trotz gleicher chemischer Zusammensetzung des Nährbodens, ein verschiedenes Verhalten desselben Bakterienstammes vorlag. Eine Parallele zu meinen und den Beobachtungen von Zeissler und Gassner speziell für gramnegative Kokken (Meningokokken und meningokokkenähnliche) finde ich z. B. in einer Arbeit von Trautmann und Fromme[1]), die bei einem Meningokokkenstamm eine Abnahme der Maltosevergärung beobachtet haben, sowie einen Umschlag der Reaktion von rot in blau bei der Dextrose- und Maltosevergärung. Weiterhin beschreibt Stoevesandt[2]) einen meningokokkenähnlichen Stamm (No. 2836), der bei Prüfungen zu verschiedenen Malen einmal alle 7 von ihm untersuchten Zuckerarten angriff, ein zweites Mal nur die Vergärung für Galaktose, ein drittes Mal die für Galaktose, Lävulose und Saccharose verloren hatte. Auch Klinger und Fourmann[3]) beschreiben einen echten Meningokokkenstamm, der das Vermögen der Maltosevergärung einbüßte. Meningokokkenstämme, die von Anfang an Maltose nicht angreifen, werden bekanntlich häufig erwähnt. Sehr deutlich beleuchten Beobachtungen von G. Mayer wie von Ruata die Verhältnisse bei der Prüfung mit den Zuckernährböden. G. Mayer[4]) führt in einer Tabelle das je nach Art der Nährbodengrundlage (Azites-Agar und Kutscher-Agar) wechselnde Zuckerspaltungsvermögen bestimmter typischer Bakterien auf, Ruata[5]) das Verhalten eines von ihm isolierten Organismus auf den v. Lingelsheimschen Nährböden, bei dem eine mehr oder weniger starke Vergärung von 8 verschiedenen Zuckerarten mit nachfolgendem, zeitlich wechselndem Umschlag von rot in blau festzustellen war.

Um die bei dem von mir isolierten Organismus nach den angeführten Ergebnissen auf den v. Lingelsheimschen Nährböden vermutete unerwünschte Wirkung des hohen Eiweißgehaltes weitgehendst einzuschränken, prüfte ich den Stamm in einer Nährflüssigkeit folgender Zusammensetzung: zu 4,5 ccm einer 1 Proz. Pepton und $^1/_2$ Proz. Kochsalz enthaltenden Nährflüssigkeit fügte ich je 0,5 ccm der 10-proz. v. Lingelsheimschen Zuckerstammlösung in Kubel-Tiemannscher Lackmuslösung, so daß sich im Gesamtvolumen (5 ccm) der gleiche Gehalt an Zucker (1 Proz.) und Lackmuslösung wie in der Plattenkultur ergab. Das Resultat war folgendes: nicht angegriffen wurden dieselben Zuckerarten wie auf den Plattenkulturen; Dextroselösung wurde nach 2mal 24 Std. deutlich, später stark gerötet, Galaktoselösung bekam nach 2mal 24 Std. erst einen Stich ins Rote; nach 3mal 24 Std. tiefrote Färbung, die nach mehrtätiger Beobachtung heller wurde.

---

[1]) **Trautmannn** u. **Fromme**, München. med. Wochenschr. 1908. No. 15.

[2]) **Stoevesandt**, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 46. 1908.

[3]) **Klinger** u. **Fourmann**, München. med. Wochenschr. 1915. No. 31.

[4]) **Mayer**, G., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 49. 1909.

[5]) **Ruata**, Centralbl. f. Bakt. Abt. I Orig. Bd. 51. 1909.

Ein Umschlag von rot in blau erfolgte jedoch bei der Dextroselösung nicht, wie früher auf den Plattenkulturen. Es kann also der ausbleibende Farbenumschlag auf den gegenüber der Plattenmethode geringeren Eiweißgehalt zurückgeführt werden.

Daß die v. Lingelsheimschen Nährböden nicht etwa als die differentialdiagnostische Methode für die Unterscheidung gramnegativer Kokken anzusehen sind, geht schon aus der Veröffentlichung v. Lingelsheims selbst hervor, in der sich ja verzeichnet findet, daß Micr. catarrhalis und Micr. cinereus sich den Zuckerarten gegenüber gleich verhalten, während anderweit kulturelle Unterschiede bestehen. Nicht die v. Lingelsheimschen Nährböden als solche, sondern das Prinzip der verschiedenartigen Zuckervergärung ist das bakteriologisch Wichtige.

Einen gramnegativen Mikrokokkenstamm konnte ich vor kurzem in auffallender Häufigkeit unter den Keimen der Luft im hiesigen hygienischen Institut isolieren, der, wie Micr. catarrhalis und Micr. cinereus, keine der erwähnten 9 Zuckerarten angriff, trotzdem aber mit diesen nicht identisch war. Wachstum auf allen festen Nährböden sehr schnell und üppig (20 und 37) in grauweißem, feuchtem Belag, spärliches Wachstum in Bouillon und Lackmusmolke. Gelatine wird nicht verflüssigt, auf (Menschen-)Blutplatte keine Hämolyse, Kultur in allen Flüssigkeiten leicht verreiblich. Mikroskopisches Bild ohne Besonderheiten. Keine Kapselbildung. Aërobier.

Einen anderen gramnegativen Mikrokokkenstamm fand ich gelegentlich bei der kulturellen Verarbeitung eines tuberkulösen Eiters, bei dem eine Mischinfektion vermutet wurde. Kulturen von auffallend weißer Farbe, sehr üppig, feucht, außerordentlich rasch wachsend (20 und 37) auf festen Nährböden sowie in Bouillon und Lackmusmolke, die gebläut wird. Keine Gasbildung in Traubenzuckerschüttelkulturen, keine Indolbildung, keine Hämolyse auf Menschenblutplatten. Gelatine wird nicht verflüssigt, Aërobier. Kulturen leicht verreiblich. Keine Kapselbildung. Von den v. Lingelsheimschen Nährböden werden innerhalb 18 Std. Dextroseplatten leicht gerötet, schwächer Galaktose-, noch schwächer Maltoseplatten, bei längerer Bebrütung verschwindet die Rötung überall. Die übrigen 6 Zuckerarten werden nicht angegriffen. In Peptonwasserzuckerlackmuskulturen zeigt nach 18 Std. starke und bleibende Rötung das Dextroseröhrchen, das Galaktoseröhrchen nach 2mal 24 Std. schwache, nach 3mal 24 Std. starke Rötung. Maltoseröhrchen zeigt erst nach 3mal 24 Std. Spuren von Rötung, ohne daß diese später zunimmt. Nach 3mal 24 Std. zeigen aber auch Lävulose- und Laktoseröhrchen schwache, aber deutliche Rötung, während diese auf den v. Lingelsheimschen Nährböden nicht zu beobachten war. Die übrigen 4 Zuckerarten werden nicht angegriffen.

Das Ergebnis der Kulturprüfung auf den v. Lingelsheimschen Nährböden darf eben nicht schematisch behandelt werden; die Methode kann wertvolle Aufschlüsse geben, neben ihr müssen aber auch noch alle anderen Methoden geprüft werden.

Für den Kliniker war es zunächst sehr wichtig, zu erfahren, auf welchem Wege die ungewöhnliche Infektion des Auges zustande gekommen war, da ja die Operation unter Beachtung aller Vorsichtsmaßregeln ausgeführt war und die Eigenart des bakteriologischen Befundes ungewöhnliche Verhältnisse vermuten ließ.

Es bestanden nun folgende Möglichkeiten:

1) Der Keim befand sich zur Zeit der Operation auf der Schleimhaut des Auges des Pat. und wurde bei der Injektion von hier aus ins Augeninnere verschleppt,

2) konnte er sich in den bei der Operation benutzten Flüssigkeiten befunden haben,

3) konnte er als Schleimhautsaprophyt der bei der Operation beteiligten Personen infolge Tröpfcheninfektion bei unumgänglich notwendigem Sprechen auf das Auge des Kranken gelangt sein,

4) war daran zu denken, daß es sich um einen Luftkeim handeln könnte, der zufällig vor oder während der Operation auf die Bindehaut gefallen, bei der Injektion mit in die Tiefe verschleppt worden war.

In diesen Richtungen mußten sich also die Untersuchungen bewegen. Es ist nun schon hier vorwegzunehmen, daß sich der Infektionsmodus leider nicht hat aufklären lassen.

Untersuchungen der Bindehaut des Pat. vor der Operation und des nur spärlichen Bindehautsekretes nach Eintritt der Panophthalmie ergaben nicht die Anwesenheit gramnegativer Mikrokokken. Es bestand ferner die Möglichkeit, daß der Keim vom Rachen oder der Nase aus entweder durch Selbstinfektion des Pat. (Finger, Taschentuch usw.) oder, durch den Tränennasenkanal wandernd, die Bindehaut infiziert hätte. Nach der 2. Operation (Absaugung des eitrigen Exsudates) wurden daher Abstriche der Rachen- und Mundschleimhaut kulturell verarbeitet, ohne daß aber die so charakteristischen gramnegativen Kokken gefunden werden konnten. Allein, auch ein positiver Ausfall der Untersuchung hätte, nachdem die Operation stattgefunden hatte, nichts Beweisendes mehr für sich gehabt, da ja eine nachträgliche Infektion der Bindehaut infolge der Operation nicht mehr auszuschließen war. Sehr wichtig war der Umstand, daß nach dem in der hiesigen Augenklinik geübten Verfahren der Bindehautsack wegen möglicher Pneumokokkeninfektion vor der Operation mit Optochin vorbehandelt wird. Es war daher von Interesse, festzustellen, wie dieser Keim sich diesem Mittel gegenüber verhält.

Benutzt wurde die bei der Vorbehandlung verwendete 1-proz. Optochinlösung. In 1 ccm der Lösung wurde im Reagenzglase 1 Oese der frischgewachsenen Kultur verrieben und von dieser in verschiedenen Zeitintervallen auf Traubenzuckeraszitesplatten ausgestrichen, sowie mehrere Oesen in Bouillonröhrchen verteilt, um hier durch starke Verdünnung eine Nachwirkung des Mittels auszuschalten. Die Röhrchen wurden 5 Tage bei 37° gehalten.

Es zeigte sich nun, daß die 1-proz. Optochinlösung bereits nach 2 Min. Einwirkung die Keime in den beiden Nährböden nicht mehr zum Wachstum kommen ließ. Die hohe Wirkung des Optochins gegenüber diesem Stamme gramnegativer Kokken erinnert an die des Optochins und ihm verwandter Mittel gegenüber Meningokokken [1]). Wahrscheinlich wird daher auch die Optochinwirkung auf der Bindehaut groß gewesen sein und macht es daher etwas unwahrscheinlich, daß jene Mikrokokken vor der Operation reichlich vorhanden gewesen sind. Immerhin kann man die Vermutung nicht von der Hand weisen, daß es sich bei dem vorliegenden Organismus um einen Schleimhautbewohner gehandelt haben kann.

Die zweite Vermutung betraf eine Nichtsterilität der bei der Operation verwendeten Lösungen. Die zum Anästhesieren benutzte Kokainlösung war nicht mehr vorhanden, wohl aber noch die Ringersche Lösung. Dieselbe konnte bereits am 2. Tage nach der 1. Operation untersucht werden und erwies sich als steril. Dasselbe wird wohl auch von der aufgekochten Kokainlösung anzunehmen sein; die Ringersche Lösung war kurz vor der Operation im Dampf sterilisiert worden; denn die kulturell gezüchteten Keime erwiesen sich gegen Hitze sehr wenig widerstandsfähig. 5 Min. Erhitzung auf 100° (im Wasserbad) hatte sie (aufgeschwemmt in Kochsalzlösung) abgetötet.

---

[1]) **Isaac**, München. med. Wochenschr. 1917. No. 31; **Morgenroth**, Deutsch. med. Wochenschr. 1912. No. 19 u. 27.

Auch für die dritte Möglichkeit, Uebertragung der Keime von den an der Operation beteiligten Personen durch Tröpfcheninfektion, fand sich kein Beweis oder Anhaltspunkt; sie war auch in diesem Falle von vornherein nicht sehr wahrscheinlich, da der Operateur, die einzige Person, die bei der Operation sprechen mußte, durch Mundschleier geschützt war. Von allen 5 beteiligten Personen wurden Rachenabstriche kulturell untersucht; gramnegative Mikrokokken fanden sich überhaupt nicht.

Die Untersuchung der Luft verlief ebenfalls resultatlos, allerdings wurde die Luft erst einige Tage nach der Operation untersucht. Auf die Vermutung einer Luftinfektion wurde ich dadurch gebracht, daß, wie schon erwähnt, bei Luftuntersuchungen im hiesigen Hygienischen Institut manchmal sehr reichlich gramnegative Kokken vorhanden sind. Auch Flügge[1]) gibt an, daß gramnegative Kokken in der Luft durchaus nicht spärlich zu finden sind. Die Möglichkeit der Infektion mit einem Keime aus der Luft war also nicht gänzlich von der Hand zu weisen, obwohl praktisch Infektionen mit Luftkeimen eine geringe Rolle spielen. Sie konnte während der Operation erfolgt sein, obgleich einerseits die stets relativ feuchte Luft eines Operationssaales dem Umherfliegen von Mikroorganismen hinderlich ist, andererseits es als ein ganz großer Zufall anzusehen war, wenn gerade ein einzelner Keim, von der Injektionsnadel gefaßt, mit injiziert worden wäre. Bei einer Untersuchung der Luft des Operationssaales wurden gramnegative Mikrokokken gar nicht gefunden. Eine Luftinfektion konnte außerdem schon vor der Operation stattgefunden haben; Untersuchungen in dieser Richtung anzustellen, erschien aber, besonders da schon mehrere Tage seit der Operation verflossen waren, aussichtslos. Daß mit Keimen, die im allgemeinen für harmlos gehalten werden und die sich gelegentlich auch in der Luft finden, Infektionen des Augeninneren erfolgen können, ist in der ophthalmologischen Literatur nicht selten beschrieben. Bekannt sind in dieser Beziehung Splitterverletzungen des Auges beim Hacken. Auch experimentell ist nachgewiesen, daß Saprophyten für das Auge unter Umständen pathogen werden können[2]).

Für den Bakteriologen war außer diesem Suchen nach dem Wege der Infektion noch von besonderer Wichtigkeit, ob bereits früher schon der isolierte Mikrokokkenstamm beschrieben worden ist, und ob pathogene Eigenschaften von ihm bekannt seien, überhaupt welche verwandtschaftliche Stellung zu den bereits bekannten gramnegativen Mikrokokken er einnimmt.

Die beiden wichtigsten Vertreter der pathogenen, gramnegativen Mikrokokken, Micr. gonorrhoeae und Micr. meningitidis, schieden schon von vornherein aus; mit ihnen konnte der isolierte Stamm nicht identifiziert werden. Denn, abgesehen von dem Habitusbild im gefärbten Präparate, sprach das kulturelle Verhalten absolut dagegen (Wachstum in den ersten Subkulturen auf gewöhnlichem Agar, Wachstum bei Zimmertemperatur, Verhalten zu den Zuckernährböden). Vielmehr kamen die anderen gramnegativen Mikrokokken in Betracht, von denen sich eine ganze Reihe eingehend beschrieben findet. Die Gruppe der gramnegativen Mikrokokken, deren morphologische und biologische Eigenschaften auf eine gewisse Verwandtschaft untereinander schließen lassen,

---

1) Flügge, Klin. Jahrb. Bd. 15. 1906.

2) s. Axenfeld, Die Bakteriologie in der Augenheilkunde. 1907. S. 81 u. 84; ferner u. a. Ulbrich, Arch. f. Ophthalm. Bd. 58. 1904. S. 243; Koske, Arb. a. d. Kaiserl. Ges.-Amt. Bd. 22. 1905.

spielt aus differentialdiagnostischen Gründen vor allem den Meningokokken gegenüber eine wichtige Rolle, da verschiedene Angehörige gelegentlich auch in der Lumbalflüssigkeit angetroffen wurden. Als Schleimhautbewohner hat sie außerdem besonders für den Augenarzt noch besonderes Interesse, da Augeninfektionen mit einigen ihrer Vertreter bekannt geworden sind.

Bei der Durchsicht der mir zur Verfügung stehenden Literatur habe ich nur die Beschreibungen solcher Fälle berücksichtigt, in denen es sich um sichere Mikrokokken handelte und bei denen ausdrücklich absolute **Gram**-Negativität und hinlänglich ausführliche Beschreibungen der kulturellen Merkmale vorhanden waren, so daß sich ein Vergleich ermöglichen ließ.

Ausführliche Beschreibungen gramnegativer Mikrokokken sowie zahlreiche Literaturangaben finden sich vor allem im „Atlas und Grundriß der Bakteriologie" von **Lehmann-Neumann**, ferner bei v. **Lingelsheim** (1905), von ophthalmologischer Seite bei **Axenfeld** (Die Bakteriologie in der Augenheilkunde. 1907), **Krukenberg** (1899—1901), **Brons** (1907), **Verderame** (1910).

Abgesehen von den ganz unzulänglichen ersten Beschreibungen gramnegativer Mikrokokken (**Bumm**, **Marthen**, **Gifford**), die weder Gonokokken noch Meningokokken sein konnten, sind auch die Beschreibungen der von **Krukenberg**[1]) und von **Abelsdorff** und **Neumann**[2]) isolierten Organismen nicht eingehend genug. Hier bedauert man das Fehlen von Angaben über Zuckervergärungsfähigkeit, das zu jener Zeit noch nicht bekannt war. Immerhin sind verwertbare Angaben da, besonders über wichtige kulturelle Unterschiede. Wenn **Brons**[3]) glaubt, daß diese Keime wohl mit dem **Micr. catarrhalis** identisch seien, da jenen Autoren damals noch die Kenntnis dieses Organismus abging, so dürfte das nur zum Teil zutreffen; denn gewisse kulturelle Erscheinungen, wie mangelndes, bezüglich allmähliches Wachstum auf gewöhnlichem Agar und in Bouillon, sowie zum Teil bestehende Gelatineverflüssigung sprechen für einige Keime gegen **Micr. catarrhalis**, zugleich aber auch gegen den von mir isolierten Stamm. Für die übrigen Keime ist ein Vergleich wegen der fehlenden Angaben nicht möglich.

Auch der von **Rosenthal** (1899)[4]) beschriebene gramnegative Micrococcus kann mit dem meinen nicht identisch sein, da er bei Zimmertemperatur nicht wächst und eine Kapsel besitzt.

Sehr wesentlich für die Differentialdiagnose erweisen sich die Angaben, die nach dem Vorgange von v. **Lingelsheim** die Zuckerzerlegung durch die betreffenden Stämme berücksichtigen. Den von v. **Lingelsheim** (1905)[5]) beschriebenen Organismen gleicht der vorliegende Mikrokokkenstamm aber auch nicht; denn Galaktosevergärung zeigt keiner, aber auch die übrigen kulturellen Merkmale stimmen nicht in allen Punkten.

Die mir nach einem Referat zugänglichen Angaben von **Dunn** und **Gordon** (1906)[6]) über die Vergärung verschiedener Zuckerarten von **Micrococcus catarrhalis**-ähnlichen, gramnegativen Kokken sind kaum zu verwerten, da die Angaben für Meningokokken nicht den von anderen Beobachtern übereinstimmend verzeichneten entsprechen. Ebenfalls nur nach dem Referat unzureichend bekannt ist ein von **Scott** (1913)[7]) beschriebener, gramnegativer, meningokokkenähnlicher Micrococcus, der neben Dextrose und Maltose auch noch Galaktose angreifen soll.

Brons (1907)[8]) beschreibt einen gramnegativen Micrococcus aus der Bindehaut, der Dextrose, Lävulose, Maltose, Rohr- und Milchzucker, zum Teil auch Inulin angreift und nur Mannit und Galaktose unverändert läßt, auf gewöhnlichem Agar erst von der 4. Subkultur an Wachstum zeigt, sich also auch wesentlich von dem Mikrokokkenstamm meines Falles unterscheidet.

---

1) **Krukenberg**, Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. Bd. 37. 1899. S. 271; Bd. 38. 1900. S. 259; Bd. 39. 1901. S. 604.

2) **Abelsdorff** u. **Neumann**, Arch. f. Augenheilk. Bd. 42. 1901.

3) **Brons**, Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. Bd. 45. 1907; Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 48. 1907.

4) **Rosenthal**, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 25. 1899.

5) v. **Lingelsheim**, Klin. Jahrb. Bd. 15. 1906.

6) **Dunn** u. **Gordon**, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 38. S. 22.

7) **Scott**, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 57. 1913. S. 341.

8) **Brons**, Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. Bd. 45. 1907.

Stoevesandt (1908)[1]) verzeichnet unter anderem 2 meningokokkenähnliche Stämme von klinisch sicheren Meningitisfällen, von denen der eine (Stamm No. 3239) überhaupt keine der geprüften Zuckerarten angreift, der andere (No. 2836) bei zeitlich verschiedener Prüfung sich den 7 Zuckerarten gegenüber ganz wechselnd verhält.

Ueber eine große Reihe gramnegativer Mikrokokken und ihre kulturellen Merkmale berichtet G. Mayer (1909)[2]). Sieht man von den aufgeführten echten Meningokokkenstämmen (Stämme M I, W I, K Ia, K II, K III, K IV) ab, und von denen, bei denen Zweifel über die Entfärbung nach Gram bestehen, so findet sich doch unter den übrigen Stämmen (Stämme W III, M III, K V, M V, W IV, K VI, K VIII, F I; K Ib, H und F II sind vielleicht Spielarten des Micr. catarrhalis) keiner, der in allen Punkten mit dem von mir beschriebenen übereinstimmt.

Von 3 von Verderame (1910)[3]) aus der Bindehaut gezüchteten gramnegativen Kokkenstämmen kommt nur 1 Stamm (Schmidt) in Betracht, da der eine Stamm ein Micr. catarrhalis ist, der andere (Stamm Reichenbach) keine reine Kokkenform besitzt. Aber auch diesem Stamm, der Dextrose und Maltose, zum Teil auch Lävulose angreift, ist sowohl wegen der abweichenden Zuckervergärung, wie auch nach den übrigen Kulturmerkmalen der meinige nicht zuzurechnen.

Pagenstecher und Wissmann (1911)[4]) haben bei einer metastatischen Panophthalmie einen meningokokkenähnlichen Stamm aus dem Auge gezüchtet, der Maltose sehr schwach, Dextrose schwach angriff, bei Zimmertemperatur nicht wuchs und dem v. Lingelsheimschen Diplococcus pharyngis flavus III sehr nahe stehen muß, wenn er auch nach Mitteilung von v. Lingelsheim selbst mit ihm nicht identisch ist, aber auch kein Micr. meningitidis ist. Mein Stamm unterscheidet sich von ihm durch Wachstum bei Zimmertemperatur sowie durch sein Gärungsvermögen in den wichtigsten Punkten.

Auch ein von Ruata (1912)[5]) von der Bindehaut des Schweines isolierter gramnegativer Micrococcus stimmt in seinen auffallendsten Merkmalen, der zitronengelben Farbe, wie der Gelatineverflüssigung mit meinem Stamme nicht überein.

Lebers[6]) gramnegativer Diplococcus samoensis (1914), der Dextrose, Laktose, Maltose, Saccharose, Mannit (in Bouillon vergärt und Milch koaguliert, kommt ebenfalls für den vorliegenden Fall nicht in Betracht, ebenso auch nicht ein von Kämmerer und Wegener (1914)[7]) beschriebener, gelblich und auf gewöhnlichem Agar kümmerlich wachsender, Gelatine allmählich verflüssigender gramnegativer Coccus, der Dextrose und Maltose vergärt, allmählich auch Lävulose angreift.

Weiterhin haben Klinger und Fourmann (1915)[8]) aus Sputum und von der Rachenschleimhaut 23 Stämme isoliert, von denen 10 sich den Zuckerarten gegenüber wie Meningokokken verhalten (nur Dextrose, Maltose und Lävulose wurden geprüft!), von den übrigen 13 greifen 7 nur Dextrose an, bei 4 Stämmen fällt die Zuckervergärung negativ aus, 1 Stamm vergärt Dextrose und Lävulose, ein anderer Dextrose, Lävulose und Maltose. Da aber eben nicht alle Zuckerarten in dem Umfange, wie v. Lingelsheim es angibt, geprüft worden sind, so ist wegen der fehlenden Angaben auch, trotz Benutzung der spärlichen übrigen angegebenen Kulturmerkmale, ein eingehenderer Vergleich mit meinem Stamme nicht möglich.

Hanckens[9]) (1916) gramnegative Mikrokokkenstämme von ausgesprochenem Flavuscharakter unterscheiden sich schon durch die Farbstoffbildung durchaus von meinem; von diesen 17 Stämmen vergoren nur 6 Dextrose, Maltose und Lävulose (= Dipl. pharyng. flavus II nach v. Lingelsheim), 7 griffen die 3 Zuckerarten überhaupt nicht an, bei einem Stamm war nur eine fragliche Dextrose- und Maltosevergärung, bei einem nur fragliche Maltosevergärung vorhanden.

Harzer und Lange (1918)[10]) führen 3 Varianten eines von Stephan[11]) im Sommer und Herbst 1915 bei Meningitisfällen aus dem Liquor der Patienten gezüchteten, gramnegativen Micrococcus an, die auf Agar gut, auf Gelatine unter geringer Verflüssigung wachsen, von denen die 1. Variante nur Dextrose, die 2. Dextrose, Mal-

---

1) Stoevesandt, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 46. 1908.
2) G. Mayer, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 49. 1909.
3) Verderame, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 54. 1910.
4) Pagenstecher u. Wissmann, Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. Bd. 59. 1911.
5) Ruata, nach Referat in Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. 1912. II. S. 574.
6) Leber, Graefes Arch. f. Ophthalm. Bd. 87. 1914.
7) Kämmerer u. Wegener, München. med. Wochenschr. 1914. N. 11.
8) Klinger u. Fourmann, München. med. Wochenschr. 1915. No. 31.
9) Hancken, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 78. 1916.
10) Harzer u. Lange, München. med. Wochenschr. 1916. No. 26.
11) Stephan, München. med. Wochenschr. 1916. No. 19.

tose, Lävulose, die 3. keine der 3 geprüften Zuckerarten angreift. Merkwürdigerweise soll nun dieser Organismus mit einem von Stephan[1]) später, Ende Dezember 1916, bei einer Influenzaepidemie aus Blut, Sputum, Rachenschleim gezüchteten „Diplococcus mucosus Leipzig“ identisch sein; dieser Keim soll aber nicht einwandfrei gramnegativ sein, Gelatine verflüssigen und eine Kapsel besitzen. v. Lingelsheim[2]) hält ihn mit seinem 1905 beschriebenen, doch sicher gramnegativen, Diplococcus mucosus für identisch, was Stephan nach privater Mitteilung auch bejaht. Scheller[3]) berichtet aber, daß die Stephanschen Kokken grampositiv sind! Entweder handelt es sich um 2 verschiedene Keime, so daß die von Harzer und Lange bakteriologisch beschriebenen verschieden sind von dem späteren sogenannten Diploc. mucosus Leipzig, was man beim Vergleich beider Beschreibungen, soweit sie überhaupt ein Urteil zulassen, annehmen möchte, oder es handelt sich um denselben (wie Stephan will), dann aber, trotz aller Angaben, gänzlich unzulänglich beobachteten Keim. Jedenfalls ist weder der 1., noch der „Diplococcus mucosus Leipzig“ mit dem von mir beschriebenen Stamm identisch. Ebenso kommen auch weder die dem Dipl. mucosus Leipzig nahestehenden, von Pollag[4]) erwähnten, gramnegativen Mikrokokken noch die von van der Hoeve[5]) bei einer Panophthalmie gefundenen wegen der beobachteten Kapselbildung in Frage.

Ein von Morax (1918)[6]) bei einer durch Verwundung erfolgten Infektion des Auges gefundener, gramnegativer Mikrokokkenstamm, der dem Micr. catarrhalis ähnlich sein, gegen Zuckerarten aber abweichendes Verhalten zeigen soll, ließ sich leider, da die Originalarbeit mir nicht zugänglich war, zum differentialdiagnostischen Vergleich nicht heranziehen[7]).

Zusammenfassung.

In einem Falle von postoperativer Panophthalmie wurde als Erreger ein gramnegativer Mikrokokkenstamm isoliert, der vor allem in seinen kulturellen Merkmalen mit keinem der bisher beschriebenen, gramnegativen Mikrokokkenstämmen übereinstimmte.

Gramnegative Mikrokokken bei metastatischen Panophthalmien sowie bei Panophthalmien nach Verletzungen sind als Seltenheiten bekannt, im Anschluß an Operationen aber noch nicht beobachtet worden. Der Weg der Infektion ließ sich im vorliegenden Falle nicht aufklären.

Zur Systematik der einheimischen Stechmücken.

3. Vorläufige Mitteilung: Die Männchen.

Von Dr. **Fritz Eckstein,** München.

Mit mehreren Best.-Tabellen und 23 Abbildungen im Text.

Als letzte meiner vorläufigen Mitteilungen über die Systematik der Schnaken möchte ich ganz kurz das für die Erkennung der ♂♂ Wesentlichste anführen. Für die praktische Bekämpfung der Stechmücken wird

---

1) Stephan, München. med. Wochenschr. 1917. No. 8.
2) v. Lingelsheim, München. med. Wochenschr. 1917. No. 18.
3) Scheller, Deutsch. med. Wochenschr. 1917. S. 1005.
4) Pollag, München. med. Wochenschr. 1917. No. 24.
5) van der Hoeve, Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. Bd. 60. 1918. S. 398.
6) Morax, nach Referat in Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. 1919. I. S. 274.
7) Anm. bei d. Korr. Ein von Frenzel beschriebener gramnegativer, meningokokkenähnlicher Mikrokokkenstamm (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 83. 1919.) ist mit dem von mir isolierten Organismus ebenfalls nicht identitch.

die Bestimmung der ♂♂ weniger in Betracht kommen, schon deshalb, weil meistens nur ♀♀ gefangen werden, da sich die ♂♂ im allgemeinen nur wenig von ihrer Brutstelle entfernen; dort findet wohl auch meist die Begattung kurz nach dem Ausschlüpfen der ♀♀ statt. Die ♂♂ schlüpfen, wenigstens bei den im Frühjahr zuerst auftretenden Generationen, vor den ♀♀ aus. Manchmal kann man jedoch auch auf ganze Schwärme kopulierender Stechmücken treffen. So konnte ich an einem schwülen Juniabend 1917 einen solchen Schwarm von Culex pipiens beobachten. Es war in der Nähe von Kehl a. Rh. auf einem von Getreidefeldern umsäumten Feldweg, in etwa 700 m Entfernung von der Brutstelle, einem ehemaligen Altwassertümpel, der nun durch Schutt allmählich zugedeckt wird. Der Schwarm bestand aus schätzungsweise 300 bis 400 Stechmückenpaaren, die in etwa 2 m Höhe über dem Boden „tanzten", er war etwa 1 m hoch. Bei meinem Herannahen flog der Schwarm über mich und begleitete mich dann, über mir schwebend, etwa 50 m weit. Interessant, aber sehr unangenehm, war die Tatsache, daß, sich als ich mich ihm näherte, vom Boden aus dem Gras am Wegrand ♀♀ in großer Zahl aufflogen und sich überall auf mir festsetzten, um zu stechen.

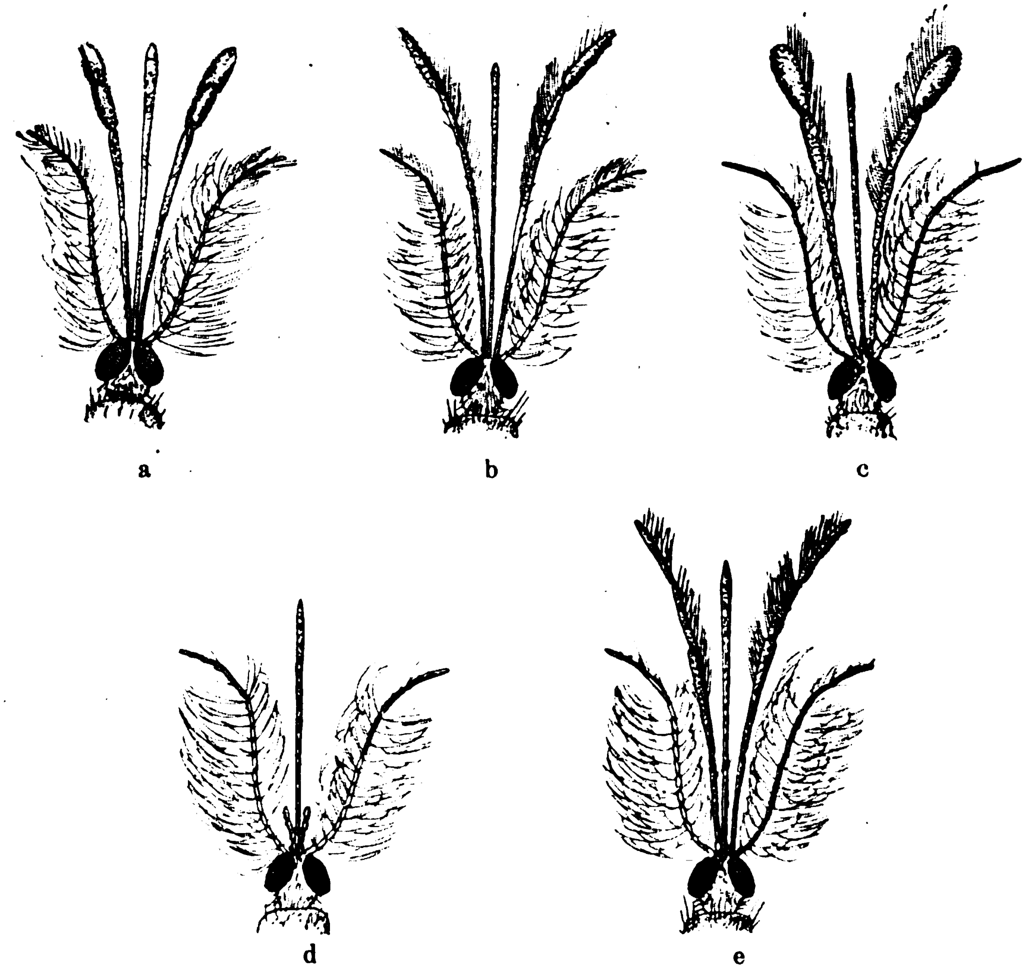


Fig. 1. Köpfe verschiedener Stechmückenmännchen. a von Anopheles maculipennis, b von Culicada lateralis, c von Culicada diversa, d von Aëdes cinereus, e von Culex pipiens.

Der Blutdurst der kleinen Tiere war recht auffallend, wahrscheinlich waren es eben befruchtete ♀♀, die nun ihren Hunger zu stillen suchten.

Von den ♀♀ lassen sich die ♂♂ bekanntlich auf den ersten Blick durch den Bau der Fühler und Taster, sowie die stärkere Behaarung des Hinterleibes unterscheiden. Die Fühler der ♀♀ tragen nur kurze, die der ♂♂ lange, haarartige Borsten, so daß letztere büschelförmig aussehen. Auch die Taster der ♂♂ sind eben solang oder länger als der Rüssel, mit langen Borstenhaaren besetzt und bei manchen Arten an den Enden keulenförmig verdickt. Zur Unterscheidung der 3 Gruppen der Anophelines, Culicines und Aëdines läßt sich jedoch der Bau der Taster nicht verwenden; nur so viel läßt sich sagen, daß die Taster der Anophelines etwa so lang wie der Rüssel und stets am

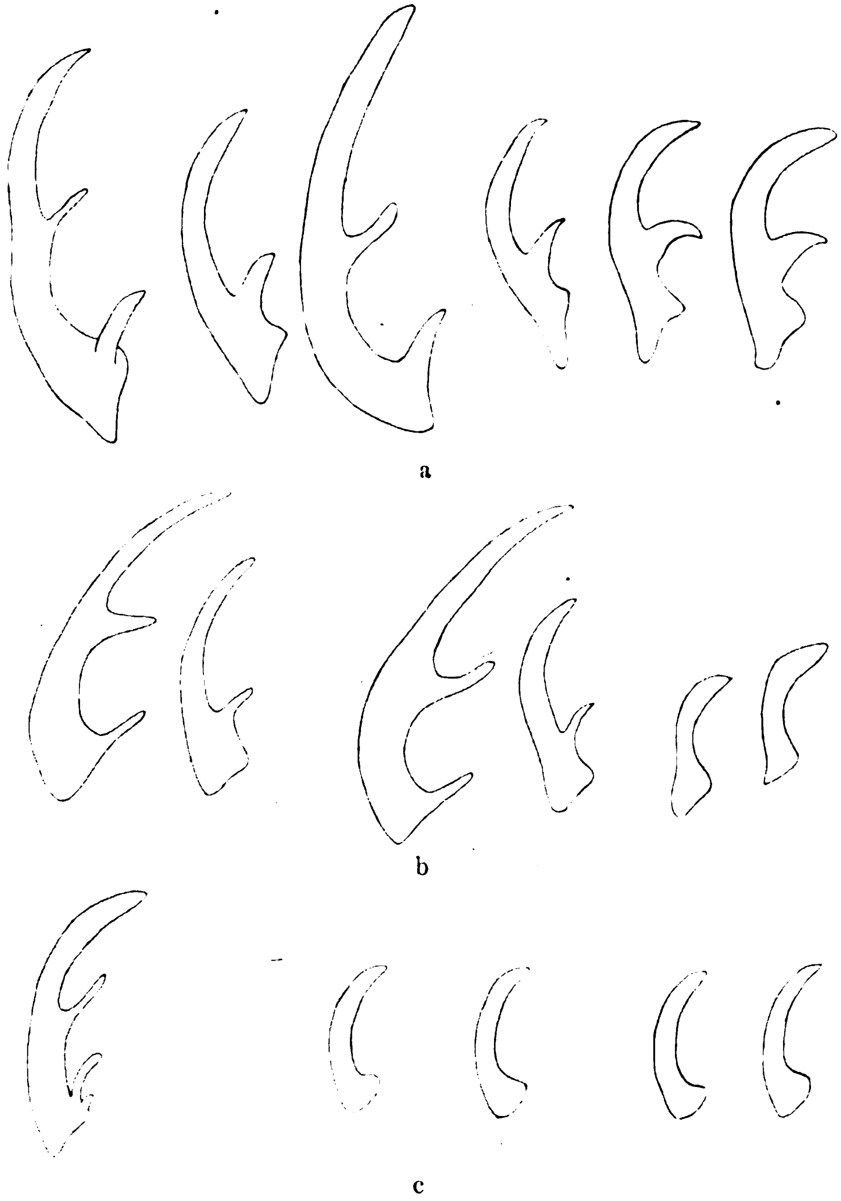


Fig. 2. Klauen des ♂. a von Culicada diversa (Aëdine), b von Culicella morsitans (Culicine), c von Anopheles maculipennis (Anopheline).

Ende keulenförmig verdickt sind, die der Culicines und Aëdines, mit Ausnahme von Aëdes cinereus, dagegen denselben weit überragen und meist nach oben eingebogen sind. Ein gutes Unterscheidungsmerkmal bildet dagegen die Ausbildung der Klauen an den 3 Tarsen, das möglicherweise mit biologischen Eigentümlichkeiten zusammenhängen kann. So sind bei den Aëdinen die Klauen der Vorder-, Mittel- und Hintertarsen gezähnt, bei den Culicinen haben nur Vorder- und Mittelklauen Zähne, die Anophelinen jedoch sind daran kenntlich, daß bei ihnen nur eine gezähnte Klaue sich am Vorderfuß befindet. Auffallend ist der Zusammenhang damit, daß wir gerade die Anophelinen so oft an den Vorderbeinen hängend antreffen.

Zur Erkennung der Gruppen der Culicines und Aëdines läßt sich ferner leicht die Form des männlichen Genitalapparates heranziehen, da sich bei den einzelnen Arten zum Teil recht große Unterschiede in der Anordnung der einzelnen Teile des männlichen Genitalapparates zeigen, die äußerst charakteristisch sind. Die Verwertung dieser Unterschiede wird vor allem in den Fällen von Nutzen sein, wo es sich darum handelt, Exemplare, die sonst sehr stark beschädigt sind, zu bestimmen. Der äußere Genitalapparat der Culiciden war von den deutschen Forschern bis vor kurzem nicht in den Kreis ihrer Beobachtungen gezogen worden, erst Martini (Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. 1915) bildete nach dem Vorgang der Amerikaner bei 3 weniger häufigen, einheimischen Arten den Genitalapparat ab. Im folgenden möchte ich nun den Versuch machen, den Genitalapparat der ♂♂ unserer Stechmücken, soweit deren Bestimmung es erfordert, kurz zu beschreiben (s. Fig. 3) und ihre Bestimmung an Hand kleiner Tabellen zu ermöglichen.

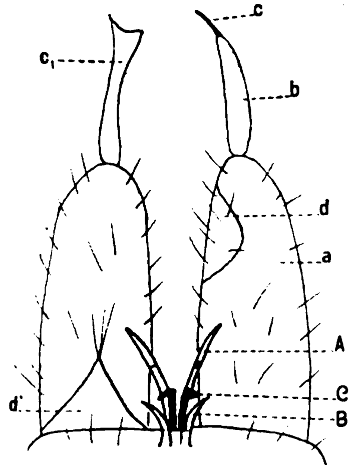


Fig. 3.

Fig. 3. Schema des ♂-Genitalapparates einer Stechmücke. *d* Halteklammer, *b* Klammerhaken, *c* Dorn des Klammerhakens, c^1 gegabelte Klammerhaken, *d* Lappenbildung an der Halteklammer, *A* Spreizhaken, *B* Spreizborsten, *C* Basalhaken (*A*, *B* und *C* der sogenannte „Spreizapparat", *a*—*d* der „Klammerapparat").

Bei allen Gruppen lassen sich 2 Hauptteile des Genitalapparates unterscheiden, die ich mit „Klammerapparat" und „Spreizapparat" bezeichnen möchte. Der Klammerapparat setzt sich zusammen aus 2 sehr muskulösen, schenkelartig gebildeten Basalstücken, die an ihrem hinteren Ende einen chitinigen Haken tragen. Die beiden Klammern können gegeneinander bewegt werden und dienen dazu, während der Begattung das ♀ zangenförmig zu umfassen. Die Klammerhaken können bei verschiedenen Arten recht verschieden aussehen; manche lassen sich ohne weiteres schon allein durch die Ausbildung des Dorns bestimmen. Die Klammern selbst sind auch zum Teil verschieden; sie sind kurz gedrungen bei manchen, sehr lang gestreckt, konisch bei anderen Arten. Bisweilen tragen sie allerlei verschieden geformte Anhänge, die als Sinnesorgane ausgebildet sein können. So sieht man z. B. am äußeren Drittel des Basalgliedes des Genitelapparates von Culex territans, ähnlich wie bei Culex pipiens, eine Reihe von verschieden langen

Borsten und blattförmigen Anhängen medianwärts vorspringen, die sehr gut zur Unterscheidung des Genitalapparates der Art von ähnlichen herangezogen werden können (s. Fig. 4). Untersucht man diese Borsten bei starker Vergrößerung, so zeigt es sich, daß es sich hier um ein groß angelegtes Sinnesorgan handelt, das aller Wahrscheinlichkeit nach Reize der Genitalsphäre zu vermitteln hat. Die Halteklammer wird von einem Nervenstrang durchzogen, der sich dort in verschiedene Aeste aufteilt und die oben genannten Fortsätze versorgt. Proximal geht ein Ast in einen langen, bandartigen Fortsatz. Dieser ist S-förmig gekrümmt, so daß die äußere, konkave Seite proximalwärts gerichtet ist. Das Ende dieser Borste ist abgerundet und trägt eine nach innen gerichtete, scharfe Spitze, unterhalb welcher eine kleine Ausbuchtung zu sehen ist. Ueber und neben dieser Borste befinden sich 2 große Sinneszellen, deren jede an den äußeren Winkeln 2 Sinnesborsten trägt. Distal hiervon gehen 2 sehr starke, starre Borsten aus, deren Basis ebenfalls noch von Verzweigungen der Genitalnerven oersorgt wird. Noch 2 ähnliche, jedoch schärfere Borsten stehen dann noch weiter distal von den oben genannten. Aehnliches finden wir auch bei unserer gemeinen Stechmücke Culex pipiens.

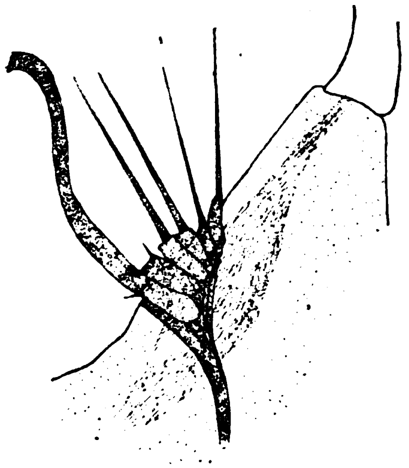


Fig. 4. Sinnesorgan an der Haltklammer von Culex territans.

Der Spreizapparat setzt sich zusammen aus einer bestimmten Anzahl von Borsten oder Haken, die Howard, Dyar und Knab mit Harpes, Harpagenes und Unci unterscheiden, Namen, die auch Martini in seinem Aufsatz verwertet hat. Ich ziehe vor, dafür deutsche Namen einzusetzen, und wähle der Lage und der mutmaßlichen Funktion entsprechende Ausdrücke. Daher setze ich für Harpes = Spreizhaken, Harpagenes = Spreizborsten, Unci = Basalhaken. Diese Gebilde scheinen einerseits dazu zu dienen, die Genitalien der ♀♀ während der Begattung in der richtigen Lage zu erhalten, andererseits mögen sie als Reizorgane zu wirken haben.

Schon allein die Gruppen der Aëdines, Anophelines und Culicines lassen sich auch nach dem Bau des Genitalapparates mit Leichtigkeit unterscheiden. So tragen die Klammerhaken der Aëdines alle lange, starke Endborsten, oder sie sind gegabelt. Die Endborsten der Culicines und Anophelines dagegen sind sehr schwach ausgebildet, bei manchen recht rudimentär und fast knopfförmig. Die beiden letzten Gruppen lassen sich dann durch die Ausbildung des Spreizapparates unterscheiden, dessen Teile bei den Anophelines borstenförmig, bei den Culicines hakenförmig sind. Nach der Einzelausbildung der Teile lassen sich dann die folgenden Tabellen aufstellen.

Bestimmungstabelle nach dem ♂ Genitalapparat.

Bestimmungstabelle der Gattungen.

1) Klammerhaken am Ende gegabelt, oder in einen langen, starken Dorn auslaufend Aëdines.
Klammerhaken nicht gegabelt, Dorn rudimentär 2

2) Die Teile des Spreizapparates kurz, gedrungen, keine langen Borsten tragend **Culicines**
Teile des Spreizapparates mit langen Borsten . . . . **Anophelines**

1. Aëdines.

1) Klammerhaken gegabelt 2
Klammerhaken nicht gegabelt 3
2) Klammerhaken nur an der Spitze gegabelt, die eine Gabelzinke dornförmig, die andere breit . . . . **Culicada vexans.**
Klammerhaken an der Basis und Spitze gegabelt, die Gabelzinken ganz kurz **Aëdes cinereus.**
3) Dorn des Klammerhakens gerade 4
Dorn des Klammerhakens geschweift . . . . **Culicada diversa.**
4) Endglied der Spreizborsten schmal, dornförmig, sichelförmig 5
Endglied der Spreizborsten blattartig verbreitert 6
5) Halteklammer mit am Ende nach innen vorspringender Lappenbildung **Culicada nemorosa.**
Halteklammer ohne Lappenbildung . . . . **Culicada ornata.**
6) Fußglied der Spreizborsten kurz unter der Ansatzstelle des Endglieds mit kleinem, nach innen gerichtetem, borstentragendem Vorsprung . . **Culicada dorsalis.**
Fußglied der Spreizborsten ohne solchen Vorsprung 7
7) Endglied der Spreizborsten dreiseitig 8
Endglied der Spreizborsten mit parallelen Längsseiten . . **Culicada annulipes.**
8) Endglied der Spreizborsten ansehnlich, mehr als $^1/_4$ so lang als das Basalglied 9
Endglied der Spreizborsten ganz kurz, dreiseitig, stummelförmig, weniger als $^1/_4$ so lang als das Basalglied . . . . **Culicada lateralis.**
9) Fußglied der Spreizborsten kurz, S-förmig geschwungen, weniger als $^1/_3$ so lang wie der Klammerhaken . . . . **Culicada nigrina.**
Fußglied der Spreizborsten langgestreckt, gerade, mehr wie $^1/_3$ so lang wie der Klammerhaken . . . . **Culicada cantans.**

2. Anophelines.

1) Teile des Spreizapparates kurz, nur eine Borste tragend 2
Teile des Spreizapparates lang, mehrere starke Borsten tragend **Anopheles maculipennis.**
2) Keine Lappen an der Basis der Klammerhaken . . . **Anopheles bifurcatus.**
Ueber der Basis der Klammerhaken von zwei, mehrere Borsten tragenden, kleinen Lappen . . . . Coelodiazesis plumbea (Anopheles nigripes).

3. Culicines.

1) Klammerhaken gerade 2
Klammerhaken abgeknickt . . . . **Mansonia richiardii.**
2) Klammerhaken mit großem, medial gelegenem Sinnesorgan 3
Klammerhaken ohne solchen Reizapparat 4
3) Morgenstern vorhanden . . . . **Culex pipiens**
Morgenstern fehlend . . . . **Culex territans.**
4) Medial von der Spitze des Basallappens der Haltklammern ein starker Doppelhaken **Culicella morsitans.**
Kein solcher Haken vorhanden . . . . **Culiseta annulata**

Bestimmungstabellen der Gattungen. ♂♂.

1) Klauen der Hintertarsen mit Zahn . . . . Aëdines.
Klauen der Hintertarsen ohne Zahn 2
2) Klauen der Mitteltarsen mit Zahn . . . . Culicines.
Klauen der Mitteltarsen ohne Zahn . . . . Anophelines.

1. Anophelines.

1) Flügel gefleckt . . . . Anopheles maculipennis Meig.
Flügel ungefleckt 2
2) Rückenmitte des Thorax braun, mit braunen Seitenstreifen, Beine braun **Anopheles bifurcatus L.**
Rückenseite des Thorax grau, Seitenstreifen schwarz, Beine schwarz Anopheles nigripes Staeger (Coelodiazesis plumbea).

2. Culicines.

1) Flügel gefleckt 2
Flügel ungefleckt 3
2) Tarsen weiß geringelt . . . . Culiseta annulata (Schrank).
Tarsen ungeringelt, einfarbig braun . . . . . Culiseta glaphyroptera Schiner.
3) Tarsen geringelt 4
Tarsen ungeringelt 5
4) Tarsen an der Basis breit geringelt 1
Tarsenglied mit weißem Mittelring . . . . Mansonia richiardii Ficalbi.
Tarsen an Basis und Spitze ganz schmal geringelt, ein Tarsenglied ohne Ringelung. Culicella morsitans Theob.
5) Hinterleibsringe am Vorderrand mit hellen Binden . . . . Culex pipiens Meig.
Hinterleibsringe am Hinterrand mit hellen Binden . . Culex territans Walker.

3. Aëdines.

1) Taster mindestens so lang wie der Rüssel 2
Taster kurz, stummelförmig . . . . Aëdes cinereus.
2) Tarsen geringelt 3
Tarsen ungeringelt 6
3) Hinterleib mit weißen basalen Binden 4
Hinterleib ohne Binden, mit zerstreuten hellen Schuppen besetzt Culicada annulipes Meig.

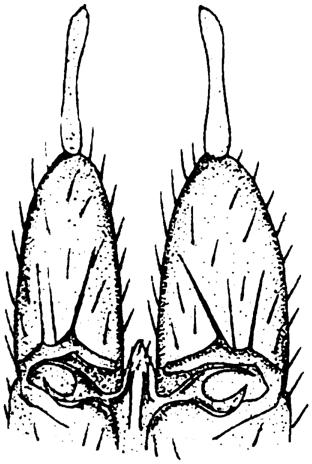


Fig. 5.

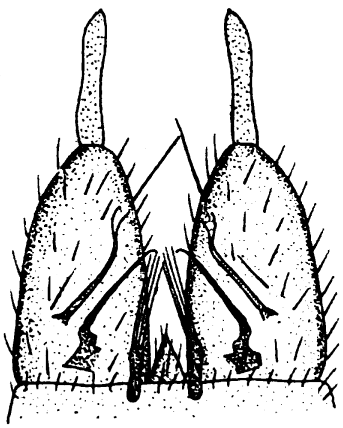


Fig. 6.

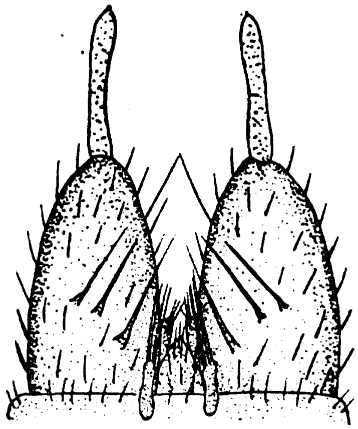


Fig. 7.

Fig. 5. Genitalapparat des ♂ von Anopheles maculipennis.
Fig. 6. Genitalapparat des ♂ von Anopheles bifurcatus.
Fig. 7. Genitalapparat des ♂ von Coelodiazesis plumbea.

4) Hinterleib mit weißer Mittellängsbinde . . . . Culicada dorsalis Meig.
Hinterleib ohne solche Längsbinde 5
5) Tarsenringe sehr breit, mehr als 1/4 der Tarsenlänge . . Culicada cantans Meig.
Tarsenringe sehr schmal, weniger als 1/4 der Tarsenlänge Culicada vexans Meig.
6) Knie auffallend silberweiß beschuppt . . . . Culicada ornata Meig.
Knie wohl hell, aber nicht auffallend weiß 7
7) Hinterleib mit hellen Binden 8
Hinterleib ohne Binden, mit seitlichen weißen Flecken Culicada lateralis Meig.
8) Die Binden nur am Vorderrand der Segmente 9
Die Binden am Vorder- und Hinterrand, mindestens das 1. Segment mit heller Mittellängsbinde . . . . Culicada diversa Theob.
9) Basale Schuppenbinden, gelblich-weiß . . . . Culicada nemorosa Meig.
Grundfarbe des Tieres tiefschwarz, die basalen Schuppenbinden sind silberweiß, fallen jedoch leicht ab . . . . Culicada nigrina Eckstein.

1. Anophelines.

Anopheles maculipennis Meig.

Das Endglied der Taster ist gleichmäßig keulenförmig verdickt, die Taster sind, ebenso wie die Fühler, schwarzbraun; der Rücken des

Thorax ist in der Mitte graubraun, zu beiden Seiten braun, so daß er einen hellen Mittellängsstreifen aufweist; die Flügel haben deutliche Schuppenflecken, doch ist die Anhäufung der Schuppen nicht so stark wie bei den ♀♀. Der Hinterleib ist braun, ohne Ringelung. Auch die Beine sind einfarbig braun. Wie bei allen Anophelinen sind nur die Klauen der Vorderbeine stark ausgebildet und tragen je einen starken, basalen Zahn, die Mittel- und Hintertarsen dagegen sind klein, ohne Zahn.

Die Halteklammern des Genitalapparates sind langgestreckt, ohne Lappen. Die Klammerhaken entspringen an seinen Enden, sind etwa gleich breit und tragen an ihrer Spitze nur einen sehr kleinen, kurzen, ganz rudimentären Dorn. An der Basis der Klammerhaken entspringt eine starke, breite, sichelförmig gebogene Klammer, an deren Ende mehrere starke Borsten sitzen. Median von dieser Klammer liegt eine breite, sichelförmig ausgeschnittene Lamelle.

Anopheles bifurcatus L.

Das Endglied der Taster ist keulenförmig verdickt. Sie sind wie die Fühler und der Rüssel braun. Von der vorigen Art unterscheidet sich das ♂ durch die ungefleckten Flügel; Klauen wie bei der vorigen Art.

Auch durch den Genitalapparat sind die Arten leicht auseinanderzuhalten. Die Halteklammern und Klammerhaken sind wie bei der vorigen Art, dagegen sind die basalen Teile ganz anders gestaltet: die langen Borsten sind nämlich nicht auf einer gemeinsamen Klammer eingefügt, sondern stehen einzeln auf basalen, schaufel- und blattförmigen Anhängen; die äußerste ist auf einem ganz kleinen Basalstück eingefügt, die mittlere steht auf einem breiten, schaufelförmigen, mehrfach gefalteten Bügel. Der dem Penis zunächst gelegene Teil, der eine Reihe sehr dicht zusammenstehender bartenartiger Borsten trägt, sitzt auf einer sohlenförmigen Chitinplatte auf.

Anopheles nigripes (Coelodiazesis plumbea) Staeger.

Die Fühler und Taster sind schwarz, das Endglied der letzteren ist keulenförmig verdickt. Der Thorax von Anopheles nigripes ist kürzer als der der beiden soeben besprochenen Arten. Die Mitte des Thoraxrückens ist deutlich grau gefärbt, die seitlichen Thoraxhaken schwarz. Schon allein daran ist die Art von den beiden vorigen verhältnismäßig leicht zu unterscheiden. Das Abdomen ist auf der Oberseite schwärzlich braun. Die Beine sind ebenfalls auf der Oberseite sehr dunkel, fast schwärzlich; nur die Hüften, die Unterseite der Schienen, das Knie und Tibio-Tarsalgelenk sind heller. Die Klauen tragen auch bei den Anopheles nigripes an den Vorderbeinen einen Zahn, die der Mittel- und Hintertarsen sind klein und ungezahnt.

♂ Genitalapparat. Die Halteklammern und die Klammerhaken sind wie bei den beiden vorigen Arten; die basalen Teile sind denen des Genitalapparates von Anopheles bifurcatus ähnlich; sie bestehen nämlich auch aus einzelnen, je 1 Borste tragenden Stücken; und doch läßt sich auch hier ein deutlicher Unterschied feststellen: An der Basis und Innenseite der Halteklammern befindet sich nämlich beiderseits je ein kleiner, lappenförmiger Fortsatz, ähnlich einer kleinen Haltklammer, die mehrere Borsten trägt. Basalwärts hiervon und zu beiden Seiten des ♂ Begattungsorganes sehen wir wiederum die sohlenartigen Lamellen, die die bartenartigen Borsten tragen, seitlich nur stehen 2, je eine Borste tragende, kleine Anhänge.

2. Culicines.

Culex pipiens Meig.

Rüssel braun, mit braunen Schuppen besetzt, gegen die Spitze zu verbreitert. Fühler 14-gliedrig, das 4. Glied mehr wie $1^{1}/_{2}$ mal so lang wie breit. Basalplatte der Fühler braun. Taster viel länger als der Rüssel. Die letzten Tasterglieder nicht verdickt, nach oben gekrümmt. Hinterhaupts-Dreieck mit grauweißen, aufrechten Schuppen besetzt, zwischen ihnen längere, gegabelte, schwarze und lange grauweiße Borsten. Thorax braun mit braungelben Schuppen. Die Hinterleibsglieder braun bis dunkelbraun, auf der Oberseite mit gelblich-grünen, an den Seiten meist verbreiterten Schuppenrändern, Unterseite graugelb beschuppt.

Flügel. Hintere Querader in einem Abstand von der vorderen, der größer ist als ihre Länge. Ursprung der vorderen Gabelzelle vor dem der hinteren Klaue:

V.-Kl. 1 gr., 1 kl. mit je 1 Zahn,
M. „ 1 „ 1 „ „ „ 1 „
H. „ 2 gleichgroße ohne Zahn.

♂ Genitalapparat. Die Klammer ist gebogen. An ihrem äußeren Ende sitzt der Klammerhaken, dessen Enddorn, wie bei allen Culicinen, nur sehr schwach ausgebildet ist. Aus der Innenseite der Klammer erhebt sich ein kurzer breiter Vorsprung, der eine Reihe von starken Borsten und blattförmigen Anhängen trägt, die wahrscheinlich ebenso wie bei Cul. territans der Aufnahme der Sinnesreize während der Begattung dienen.

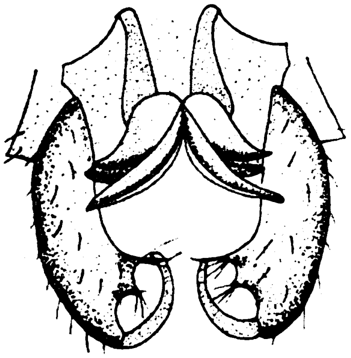


Fig. 8.

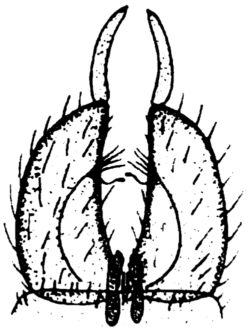


Fig. 9.

Fig. 8. Genitalapparat des ♂ von Culex pipiens.
Fig. 9. Genitalapparat des ♂ von Culex territans.

Der basale Teil des Genitalapparates setzt sich zusammen aus 3 übereinanderstehenden, starken, breiten Haken, von denen die beiden unteren einfach hakenförmig gebogen sind, während der letzte, untere schwach S-förmig gekrümmt ist. An der Krümmung dieses letzten Hakens und den zu seinen Seiten vorspringenden, morgensternartigen Spreizhaken ist Cul. pipiens ohne weiteres zu erkennen.

Culex territans Walker.

Von der vorigen Art dadurch sehr leicht zu unterscheiden, daß die Schuppenbinden des Abdomens sich nicht am vorderen, sondern am hinteren Rand der Segmente befinden. Auch bei Cul. territans ist das 4. Fühlerglied viel länger als breit, die Basalplatte der Fühler ist braun. Die Tasterendglieder sind nicht verdickt, sondern lang ausgezogen, die Taster überragen den braunen Rüssel um ein Beträchtliches.

♂ Genitalapparat. Aehnlich wie bei Cul. pipiens, sind auch bei dieser Art die Halteklammern etwas gebogen. An ihrer Spitze ist der Klammerhaken eingefügt, der an der Basis am breitesten ist. Der Dorn der Halteklammern ist kurz, sehr fein und dünn. Etwas außerhalb von der Mitte der Halteklammer erhebt sich am Innenrand derselben ein S-förmiger gelblich-weißer, bandartiger Fortsatz und einige starre Borsten, die zu einem Sinnesapparat gehören, der bereits oben beschrieben wurde. Der Basalteil des Genitalapparates setzt sich zusammen aus einer längeren Chitinplatte mit vogelschnabelähnlicher Spitze und einer an dem Ende gezahnten, sohlenförmigen Platte.

Mansonia richiardii Ficalbi.

Die Tasterglieder sind an der Basis hell grüngelb, ebenso ist der Thorax und das Abdomen einfarbig, gelb beschuppt. Die Grundfarbe des ganzen Tieres ist sehr wechselnd, vom hellen Gelb bis Braun. Die Tarsen sind breit, weiß geringelt, das 1. Tarsenglied hat eine breite, weiße Mittelbinde.

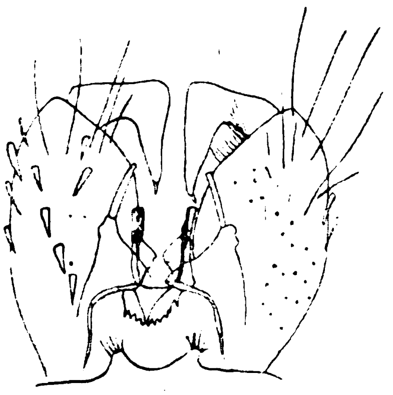


Fig. 10. Genitalapparat des ♂ von Mansonia rich. (nach Martini).

♂ Genitalapparat (nach Martini). Die Halteklammern sind knieförmig nach innen abgebogen; ihre Klammerhaken tragen an der Spitze nur einen ganz kurzen, zahnartigen Fortsatz. An der Basis der Halteklammern entspringen eben solche kleine, kugelförmige Fortsätze, an deren Spitze eine Borste eingefügt ist. Daneben sind noch kleinere, verschieden geformte Anhänge, zum Teil ähnlich denen von Culex pipiens, zu sehen.

Culicella morsitans Theobald.

Taster um das letzte Glied den Rüssel überragend; ihr Endglied wenig aber deutlich keulenförmig verbreitert. Sie sind braun beschuppt und tragen an der Basis und am Ende des 1., in der Mitte und am Ende des 2., an der Basis und am Ende des 3., sowie an der Basis des letzten Gliedes weißliche Schuppenringe, so daß die Taster braun und weiß geringelt erscheinen. Das Fußglied der buschigen Fühler ist braun, ihr 4. Glied ist viel kürzer als breit. Der Rüssel ist braun und besonders an der Basis mit vielen Borsten besetzt. Der Thorax ist braun, weißlich-grau geschuppt und hat 2 schmale, dunkelbraune, kahle Längsstreifen. Die Flügel sind ungefleckt, ihre Schuppen nicht so dunkel wie die der ♀♀. Die hintere Querader steht von der vorderen in einem Abstand, der meist etwas kleiner als ihre eigene Länge ist. Das Abdomen hat auf der Rückseite basale, gelblich-grüne, an den Seiten oft verbreiterte Schuppenringe. Die Tarsalglieder tragen alle, mit Ausnahme der beiden letzten Glieder, ganz schmale, geringelte Schuppenringe an ihrer Basis und Spitze.

V.-Kl.	1 gr. mit 2	M.-Kl.	1 gr. mit 2	H.-Kl.	2 gleichgroße
	1 kl. „ 1		1 kl. „ 1		ohne Zahn.

♂ Genitalapparat. Die Halteklammern sind gerade, konisch zulaufend; an ihrem äußersten Ende sind die nur wenig gebogenen

Klammerhaken eingefügt. An ihrer Spitze ein nur kleiner, dünner Dorn. Ventral von den großen Halteklammern 2 dreieckige, an der äußeren Spitze mit Borsten besetzte Anhänge, neben deren Spitze an der Innenseite der Halteklammern 2 starke Doppelhaken vorspringen. Der Basalteil des Genitalapparates setzt sich aus mehreren starken Haken zusammen.

Culiseta annulata Schrank.

Taster etwa um das letzte Glied länger als der Rüssel, das letzte Glied etwas keulenförmig verdickt. Grundfarbe derselben dunkelbraun; ihre Basis ist weißlich geringelt, ebenso das Ende des 2. und die Basis des 3., das Ende des 3. und die Basis des 4., sowie die Basis des letzten Gliedes; die Fühler sind schwärzlich, ihr Fußglied ist dunkel.

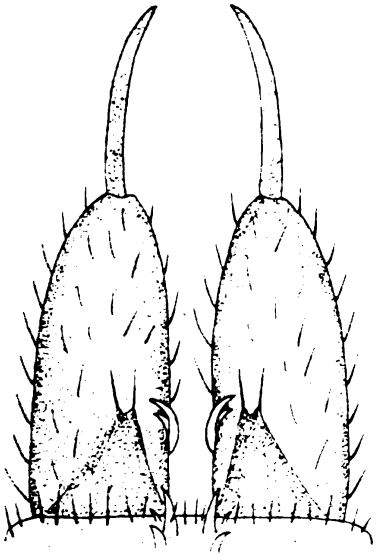


Fig. 11.

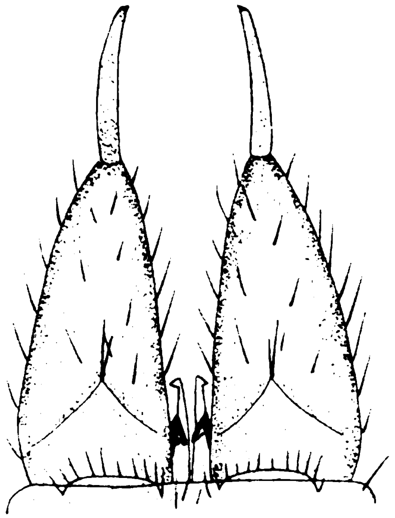


Fig. 12.

Fig. 11. Genitalapparat des ♂ von Culicella morsitans.
Fig. 12. Genitalapparat des ♂ von Culiseta annulata.

Thorax auf der Rückseite dunkelbraun, an den Seiten mit weißlichen Schuppenflecken. Abdominalringe an der Basis mit weißlich-gelben Schuppenringen, die an den Seiten verbreitert sein können. Der 1. Abdomalring trägt außerdem einen weißlichen Mittellängsstreifen. Die Flügel sind dunkel beschuppt. Queradern sind untereinander. Am Abgang der 2. Radialader, an den Queradern, am Ursprung der beiden Gabelzellen sind die Flügel etwas pigmentiert und tragen eine Anhäufung von Schuppen, so daß sie gefleckt erscheinen. Die Beine sind weiß geringelt, die

V.-Kl. 1 gr. mit 2 1 kl. „ 1	M.-Kl. 1 gr. mit 2 1 kl. „ 1	H.-Kl. beide ohne Zahn.

♂ Genitalapparat. Halteklammern gerade, konisch zulaufend. An ihrer Spitze sind die wenig gebogenen Klammerhaken eingesetzt. Von der Basis der Halteklammern erheben sich konisch zulaufende Lappen, an deren Spitze mehrere starke Borsten entspringen. Die basalen Teile des Genitalapparates setzen sich zusammen aus median gelegenen, langen, geraden, mit vogelkopfartigen Enden versehenen Haken, lateral von welchen sich die kammartig gezähnten Spreizhaken befinden.

Culiseta glaphyroptera (nach Ficalbi).

Während ich 2 Weibchen der Art erbeuten konnte, ist es mir bis jetzt nicht gelungen, ein ♂ zu erhalten. Ich beschreibe dasselbe daher kurz nach Ficalbi und füge dessen Abbildung des Genitalapparates bei. Taster länger als der Rüssel, braunschwarz, ungeringelt, das letzte Glied mäßig keulenförmig verdickt. Thorax auf dem Rücken kastanienbraun mit einem medianen und seitlichen helleren Längsstreifen; auf der Seite mit weißlichen Schuppenflecken. Flügel wie die von Culex annulata, mit dunkleren Schuppenflecken. Beine jedoch ohne Ringelung.

Klauen : V.-Kl. 1 gr. mit 2 M.-Kl. 1 gr. mit 2 H.-Kl. gleichgroßer
1 kl. „ 1 1 kl. „ I ohne Zahn.

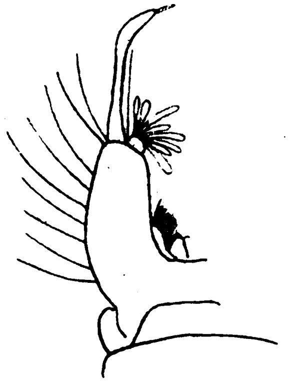


Fig. 13. Genitalapparat des ♂ von Culiseta glaphyroptera (nach Ficalbi).

♂ Genitalapparat. Ohne weiteres ist die Art an den sichelförmigen Anfängen der Halteklammern und an der Basis des Klammerhakens zu unterscheiden.

3. Aëdines.

Culicada vexans Meigen.

Tasterglied an der Basis weiß geringelt. Thorax braungrau beschuppt; Abdomen mit grauweißen, basalen Schuppenbinden. Das hinterste Segment ist meist fast ganz grauweiß beschuppt. Tarsen an der Basis sehr schmal weiß geringelt.

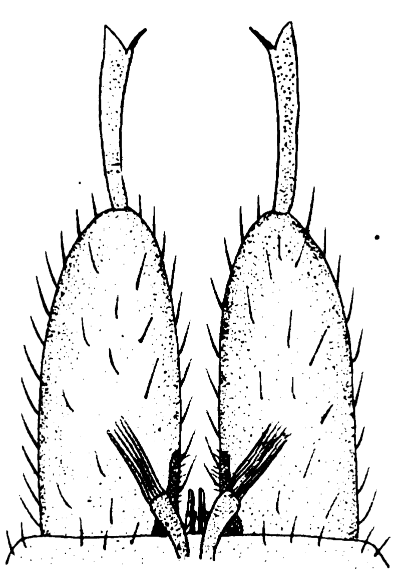


Fig. 14.

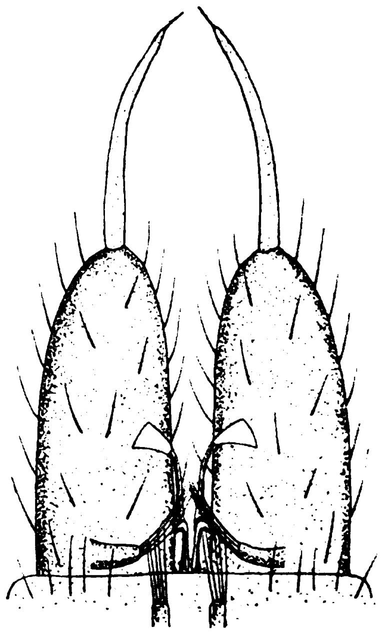


Fig. 15.

Fig. 14. Genitalapparat des ♂ von Culicada vexans.
Fig. 15. Genitalapparat des ♂ von Culicada cantans.

Diese Art — wie die ♀♀, so variieren auch die ♂♂ sehr stark in der Größe — ist nach Culex pipiens mit Anoph. maculip zusammen die weitverbreitetste in der Umgebung von Straßburg.

Klauen: V.-F. 1 gr., 1 kl. mit je 1 Zahn, M.-F. und H.-F. ebenso.

♂ Genitalapparat. Culicada vexans ist eine von unseren Aëdieen, die sich von den übrigen dadurch unterscheiden, daß ihr Klammerhaken gegabelt ist; derselbe läuft gegen sein Ende nicht spitz zu, sondern ist von der Basis an allmählich verbreitert und teilt sich dann kurz vor dem Ende in einen breiteren und einen dornartigen Ast. Der Dorn des letzteren ist nach innen gerichtet und bisweilen ganz schwach gekrümmt. Die Spreizhaken sind gedrungen, breit, und tragen am Ende lange Borsten.

Culicada cantans Meigen.

Tasterglieder an der Basis weiß, sonst dunkel; Thorax graubraun beschuppt, die Abdominalsegmente an der Rückseite grauweiß geringelt, die hintersten auch am Hinterrand; das letzte Segment ist auf der Oberseite nicht selten fast ganz grauweiß beschuppt, wie bei den ♀♀. Oft sind die Binden am Abdomen ganz schmal, dann finden sich an den einzelnen Segmenten reichlich vereinzelte, zerstreute, gelbe Schuppen.

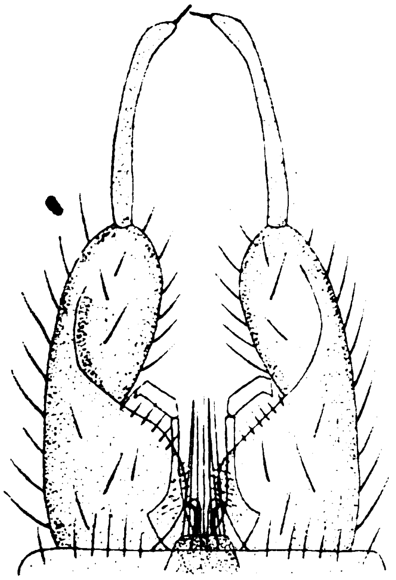


Fig. 16.

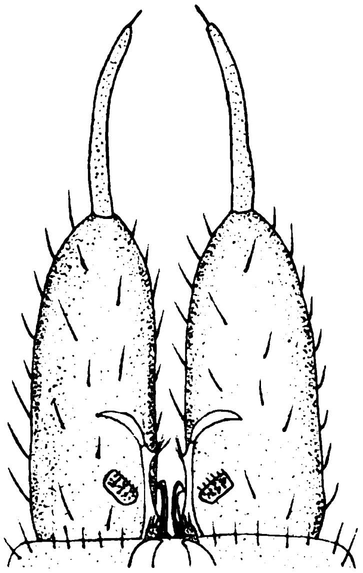


Fig. 17.

Fig. 16. Genitalapparat des ♂ von Culicada annulipes.
Fig. 17. Genitalapparat des ♂ von Culicada dorsalis.

Die Tarsen sind an der Basis breit weiß geringelt; die Ringel nehmen fast die Hälfte der Tarsenlänge ein.

Klammern:	V.-Kl. 1 gr. mit 1 1 kl. „ 1 Zahn	M.-Kl. 1 gr. mit 2 1 kl. „ 1	H.-Kl. 2 gleich große mit je 1 Zahn.

♂ Genitalapparat. Die Halteklammern sind ziemlich schlank; an ihrer Basis ein nach innen vorspringender, schmaler, lange Borste tragender Fortsatz. An ihrem Ende der lange, schmale Klammerhaken mit langem, geradem Dorn. Spreizhaken mit kurzem Endglied. Das Basalglied der Spreizhaken ist langgestreckt, schmal, an der Basis verbreitert. Das Endglied 3-seitig, blattförmig verbreitert.

Culicada annulipes Meigen.

Thorax und Abdomen sind einfarbig, gelb beschuppt, die Flügelschuppen gelblich. Beine gelb, mit vereinzelten, dunkleren Schuppen. Die Tarsen sind an der Basis breit weiß geringelt, also ganz ähnlich wie Mansonia richiardii, von der sie sich mit Sicherheit wohl nur durch das Fehlen der Mittelbinde des 1. Tarsalgliedes, sowie durch den Bau des männlichen Genitalapparates unterscheiden. Die Art hat große Aehnlichkeit mit hellen Exemplaren von Cul. cantans, allein ihr fehlen neben den hellen Vorderrandsbinden die Andeutungen von Schuppenbinden am hinteren Rand der letzten Segmente, die bei Cul. cantans immer vorhanden sind.

♂ Genitalapparat: Die Halteklammern sind nach innen gekrümmt und an ihrer Basis breit gelappt. An diesen Lappen befinden sich Borstenplatten, die kurze, nach innen gerichtete Borsten tragen. Die Spreizhaken sind langgestreckt; das Fußglied ist an seiner Basis breit, das Endglied lang, blattförmig verbreitert und an den Enden hakenförmig gekrümmt.

Culicada dorsalis Meigen.

Tasterglieder weiß. Rüssel geringelt, in der Mitte weißlich. Rüsselspitze tiefschwarz. Kopf über den Augen weißgrau, an den Seiten rostrot beschuppt. Thorax schwarzbraun, die Rückenmitte goldbraun beschuppt. Seitlich davon breite, weiße Längsbinden, die hinten miteinander zusammenhängen. Seitlich von diesen weißen Längsstreifen jederseits eine fuchsrote Längsbinde. Thoraxseiten und Hüften weißlich beschuppt. Die Flügeladern dicht beschuppt mit wahllos durcheinander stehenden, hellen und dunklen Schuppen. Der Hinterleib ist auf der Oberseite schwarzgrau. Das 1. und letzte Abdominalsegment sind fast ganz weiß beschuppt. Die übrigen Segmente tragen weiße Binden am Vorder- und Hinterrand, die in der Mitte verbreitert sind und durch ein breites, weißes Längsband miteinander in Verbindung stehen. Die Unterseite des Abdomens ist fast glänzend weiß beschuppt. Die Schenkel und Schienen aller 3 Beinpaare sind auf der Oberseite hell und dunkel gesprenkelt. Die Schienen insbesondere sind sehr hell. Auf der Unterseite sind alle Schenkel und Schienen weiß. Die Vorder- und Mitteltarsen an ihrer Basis und Spitze sehr schmal, die Hintertarsen breit, weiß geringelt.

Genitalapparat: Die Klammerhaken sind langgestreckt, gerade und tragen an ihrer Basis 2 mit kurzen Borsten besetzte Borstenplatten. Die Spreizhaken sind schlank, langgestreckt; das Fußglied hat kurz vor seinem Ende innen einen kleinen, mehrere Borsten tragenden Absatz. Das Endglied ist lang, blattartig, sichelförmig gekrümmt.

Culicada ornata Meigen.

Taster und Fühler schwärzlich, die Grundfarbe des Thorax ist schwarzbraun; er ist, mit Ausnahme zweier seitlich der Mitte gelegenen Längsstreifen, gelblichweiß, an den Seiten weiß beschuppt. Die Rückseite des Hinterleibes variiert sehr in der Zeichnung, doch findet man bei den Männchen anscheinend häufiger solche, die nur seitliche Flecken haben. Oft haben alle Hinterleibssegmente weiße Querbinden, meist sind diese aber an den hinteren Segmenten in der Mitte durchbrochen, so daß dort nur dreiseitige, weiße Flecken zu sehen sind. Manche Exemplare haben gar keine Binden, sondern nur solche Flecken. Sehr charakteristisch dagegen, immer vorhanden und bei keiner unserer anderen Stechmückenarten in dem Maße ausgebildet, sind die glänzend silberweißen Schuppenbinden an allen Knien.

Genitalapparat: Klammern und Klammerhaken ohne Besonderheiten, sehr ähnlich denen von Cul. cantans. Die Spreizhaken sind langgestreckt, besonders ist das Basalglied sehr lang und schmal. Auch das Endglied ist schmal, sehr lang und sichelförmig gekrümmt.

Culicada lateralis Meigen.

Taster dunkel, der Thorax ist auf der Rückseite grau, an den Seiten weiß beschuppt, oft sind 1 oder 2 kahle Mittelstreifen frei von Schuppen. Hinterleib oben schwarz, mit weißen, basalen, seitlichen Schuppenflecken, die nirgends zu Binden vereinigt sind, also dem von Cul. ornata unter Umständen gleich. Beine schwarz, Knie weißlich-grau.

Genitalapparat: Die Klammern tragen an ihrer Basis Borstenplatten mit kleinen, nach innen gerichteten Borsten. Das Basalglied der Spreizhaken ist lang, ihr Endglied dagegen sehr kurz, 3-seitig und nicht breiter als das Basalglied; daran ist die Art also mit Sicherheit von Cul. nemorosa und ornata zu unterscheiden.

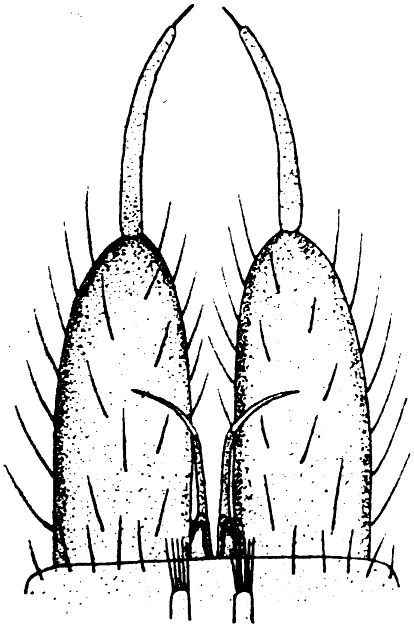


Fig. 18.

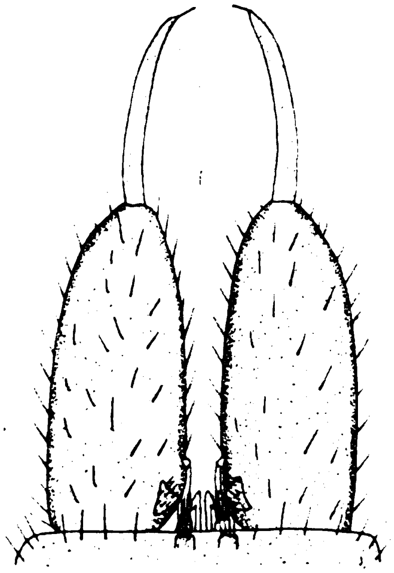


Fig. 19.

Fig. 18. Genitalapparat des ♂ von Culicada ornata.
Fig. 19. Genitalapparat des ♂ von Culicada lateralis.

Culicada diversa Theobald.

Rüssel schwärzlich violett, gegen die Spitzen verbreitert; an der Basis, besonders an der Unterseite, mit weißlichen, bräunlichen, gegen die Spitze mit grün violett schimmernden Schuppen besetzt. Taster länger als der Rüssel; ihr letztes Glied ist keulenförmig verdickt und mit langen, dunklen Borsten besetzt. Die Farbe der Tasterbasis ist ebenfalls schwärzlich, weiter nach außen sind sie mit zahlreichen, grauen, braunen Schuppen bedeckt. Die Fühler sind dunkel, pinselig-büschelförmig, mit langen, dunklen, weißlich schimmernden Borstenbüscheln, 14-gliederig, das 4. Glied ist kurz, gedrungen, nicht 2mal so lang als breit. Das Fußglied der Fühler ist schwärzlich. Hinterhauptdreieck mit grauweißen, schmalen, aufrechten, nach vorn gerichteten Schuppen besetzt, zwischen ihnen vereinzelt stehend schmale, gegabelte, schwarze und, besonders nach vorn, lange, weißlich-gelbe Borsten.

Grundfarbe des Thorax schwärzlich-braun. Auf seiner Rückenseite ein schmaler, aus gelblichen Schuppen bestehender Mittelstreifen. Zu beiden Seiten desselben nur vereinzelte, gelbliche Schuppen, so daß zu beiden Seiten des gelblich-grauen Mittelstreifens je eine dunkle Längslinie besteht. Seitlich von diesen dunklen Längsstreifen ist der Thorax wieder mit gelblichen, golden glänzenden Schuppen besetzt. Hinterster Teil des Thorax mit langen, gekrümmten, weißlich-grauen Schuppen, vor dem Schildchen lange, graue und schwärzliche, nach hinten gerichtete Borsten. Unterseite des Thorax und Hüften dicht mit weißen Schuppenflecken bedeckt. Beine einfarbig, schwärzlich, mit gelben, glänzenden Schuppen besetzt. Die Schenkel an den Knien mit grau-weißlichem, schmalem Schuppenring.

Vorderklauen: eine große mit 2, eine kleine mit 1 Zahn,
Mittelklaue: ebenso,
Hinterklaue: mit je 1 Zahn.

Abdomen dunkel braunschwarz, zu beiden Seiten mit langen, gelblich-weißen Borsten besetzt. Auf der Rückseite tragen die einzelnen Segmente in der Mitte verbreiterte, graugelbe Schuppenbinden. Sie bilden, wenigstens andeutungsweise, mit ebensolchen Binden am hinteren Rand der Segmente eine helle Mittellängsbinde, die meist nur auf dem 1. Abdominalsegment deutlich erhalten ist. Auf der Unterseite sind die Hinterleibsringe mit weißlich glänzenden Schuppen besetzt.

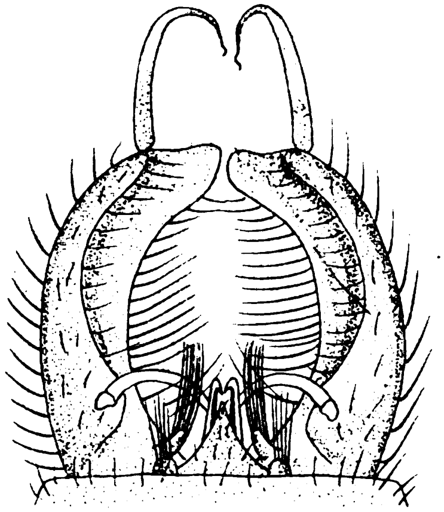


Fig. 20.

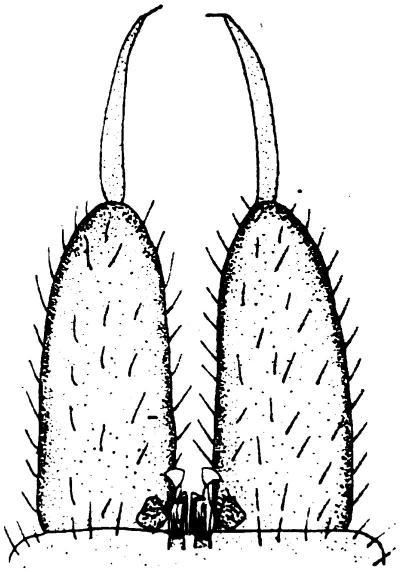


Fig. 21.

Fig. 20. Genitalapparat des ♂ von Culicada diversa.
Fig. 21. Genitalapparat des ♂ von Culicada nigrina.

Die Flügel sind ungefleckt. Ursprung der vorderen Gabelzelle vor dem der hinteren. Die hintere Querader in etwa einem ihrer Länge gleichen Abstand von der vorderen. Schwingknöllchen dunkelbraun, mit grauweißen Schuppen besetzt.

Genitalapparat: Halteklammern gebogen, an ihrem Ende mit nach der Mitte vorspringendem, lappenförmigem, borstentragendem Fortsatz. Die Klammerhaken sind stark gebogen, am äußeren Ende der Halteklammern eingefügt. Ihr Dorn ist lang, zuerst gerade, an seinem Ende S-förmig gekrümmt. Spreizhaken mit breiter Basis, weit sichelförmig, gegen das Ende verbreitert. Endglied derselben kurz und breit, zu beiden Seiten derselben von den Haltekammern her 2 kurze, am Ende verbreiterte, handförmig-kammartige Borstenplatten vorspringend, deren Zähne zu langen, gekrümmten Borsten ausgezogen sind. Die Basalteile des Genitalapparates zeigen den gewöhnlichen Bau. An den gekrümmten Enddornen der Klammerhaken, zusammen mit den großen sichelförmigen Spreizhaken, ist die Art sofort von ähnlichen zu unterscheiden.

Culicida nigrina Eckstein.

Grundfarbe des ganzen Tieres tiefschwarz; Rüssel schwarz, mit feinen, grauen Schuppen besetzt. Fühler und Taster schwarz. Kopf über den Augen gelbgrau beschuppt. Grundfarbe des Thorax tiefschwarz, die Rückseite gelbgrau, die Seiten weiß beschuppt. Hinterleib auf der Oberseite tiefschwarz, jedes Segment mit weißglänzender Schuppenbinde, an den beiden letzten Segmenten oft nur seitliche, weiße Flecke, die in der Mittellinie kaum zusammenhängen; bei vielen im Freien gefangenen Exemplaren sind diese Binden kaum erhalten, oft bestehen sie nur aus einzelnen Schuppen, oder sie fehlen ganz, was ich bei den Weibchen nie beobachtet habe; dann sind die ganzen Tiere tiefschwarz. Die Unterseite der Segmente mit weißen Schuppenbinden. Flügeladern mit schwarzen Schuppen besetzt. Alle 3 Beinpaare unten heller als oben, wo sie fast schwarz sind.

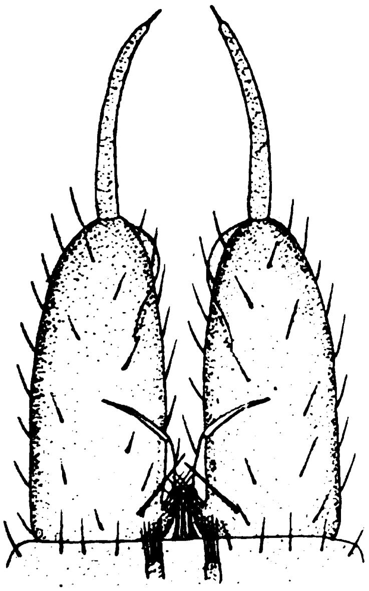


Fig. 22.

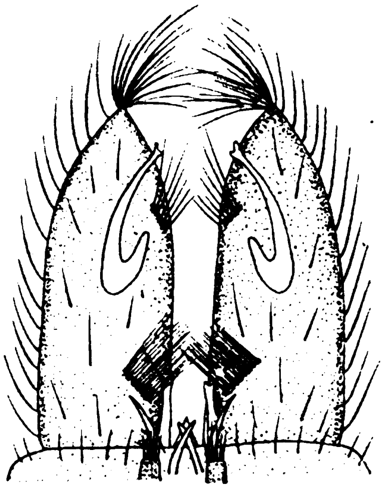


Fig. 23.

Fig. 22. Genitalapparat des ♂ von Culicada nemorosa.

Fig. 23. Genitalapparat des ♂ von Aëdes cinereus.

Klauen: Vorderklauen groß mit je einem Zahn, ebenso die Mittelklauen, Hinterklauen gleich groß, mit je 1 Zahn.

Genitalapparat: Klammern gerade, Dorn der Klammerhaken ziemlich lang. An der Basis der Klammern kleine Borstenplatten mit kurzen, nach innen gerichteten Borsten. Die Spreizhaken sind ziemlich kurz und gedrungen, das Basalglied S-förmig gekrümmt, an der Basis verbreitert. Das Endglied ist breit, 3-seitig, blattartig, die einzelnen Seiten etwa gleich lang.

Culicada nemorosa Meigen.

Fühler und Taster braun, Thorax dunkelbraun, gelbgrau beschuppt; oft sind auf ihm 1 oder 2 Mittellängslinien angedeutet, wie bei den Weibchen. Abdominalsegmente auf der Rückseite an der Basis mit gelbgrauen, seitlich mitunter etwas verbreiterten Querbinden. Beine dunkelbraun, Knie gelblich-weiß.

Die Klammerhaken des Genitalapparates mit kurzen, apikalen Lappen, die lange Borsten tragen. Die Spreizhaken sehr lang, das Endglied langgestreckt, sehr schmal, schwach sichelförmig gekrümmt.

Aëdes cinereus Meigen.

Taster kurz, stummelförmig, braun. Thorax graurötlich bis rostbraun. Hinterleib mit zerstreuten, gelblich-braunen Schuppen besetzt, braun bis schwärzlich-braun, nicht geringelt. Beine ungeringelt, einfarbig braun. Thoraxseiten weißlich, Flügel ungefleckt, Flügelschuppen rötlich. Auch die Männchen variieren ziemlich stark. Ich fand ganz kleine, deren Thorax meist rostbraun aussieht.

Die Klammern sind konisch zulaufend, ziemlich gedrungen. Die Klammerhaken sind nicht am äußersten Ende, sondern etwas oberhalb der Mitte eingefügt. Sie sind an der Basis breit und breit gegabelt. Gegen das Ende zu sind sie verschmälert und kurz gegabelt. Die Klammern tragen oberhalb der Basis und nahe der Spitze, sowie an dieser selbst starke Borstenbündel. Die Spreizhaken sind gedrungen und tragen am äußeren Glied ihrer kurz gegabelten Spitze eine lange Borste.

Im Augenblick, wo ich diese letzte meiner vorläufigen Mitteilungen abschließe, möchte ich nicht unterlassen, Herrn Prof. Dr. Bresslau für das rege Interesse und die mannigfache Förderung auch dieser kleinen Arbeit herzlich zu danken.

Druckfehlerberichtigung.

In der Arbeit: „Vergleichende Untersuchungen über die Widerstandsfähigkeit von Anaërobensporen gegen Siedehitze in Hirnbreiröhrchen“ von Leopold Becker, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 84. 1920. Heft 1. S. 76 muß in der Tabelle die erste Klammer (Hirnbrei nicht schwärzend) nicht nur die gesamte 1. Gruppe umfassen, sondern auch noch die erste Zeile der 2. Gruppe, den Novyschen Bazillus. Die zweite Klammer (Hirnbrei schwärzend) soll nur die letzten 5 Zeilen der 2. Gruppe umfassen:

In die 1. Gruppe fallen:	
der Kittsche Rauschbrandbazillus,	Hirnbrei nicht schwärzend
der Fothsche Rauschbrandbazillus,	
die I. Art der Bazillen des malignen Oedems,	
die III. „ „ „ „ „ „	
In die 2. Gruppe fallen:	
der Novysche Bazillus,	
die II. Art der Bazillen des malignen Oedems,	Hirnbrei schwärzend
der Tetanusbazillus,	
der Bacillus putrificus Bienstock,	
der Bac. putrificus tenuis,	
der „ „ verrucosus.	

Inhalt.

Bach, F. W., Ueber gramnegative Mikrokokken als Erreger einer Panophthalmie, S. 214.

Eckstein, Fritz, Zur Systematik der einheimischen Stechmücken. 3. Vorläufige Mitteilung: Die Männchen, S. 223.

Lauber, Ilse, Bakteriologische Untersuchungsergebnisse der Mannheimer Ruhrepidemie Juli bis November 1917, S. 201.

Loewenhardt, Felix E. R., Ueber gegenseitige Beziehungen der Agglutinine des Bazillus X 19 und der Typhus- und Ruhrgruppe, S. 191.

Sierakowski, Stanislaw, Ueber die Einwirkung verschiedener Methoden der Impfstoffbereitung auf den Agglutinationstiter der gegen Cholera und Typhus Schutzgeimpften, S. 161.

Sierakowski, Stanislaw, Ueber Mitagglutination bei Cholera. Beitrag zur Diagnose der Cholera, S. 178.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 84. Heft 4.

Ausgegeben am 24. April 1920.

Nachdruck verboten.

Beiträge zur Biologie des Pfeifferschen Influenzabazillus.

Mischkulturen — Mischinfektion.

[Aus dem Hygiene-Institut der Universität Zürich (Direktor: Prof. Dr. W. Silberschmidt).]

Von Dr. **J. E. Wolf,** Davos, Assistent am Institut.

Die vielen bakteriologischen Untersuchungen, welche während der Influenza-Pandemie 1918/19 an verschiedenen Orten ausgeführt worden sind, haben zu einer Lösung der Frage über die Aetiologie der Influenza noch nicht geführt. Die einen Autoren erkennen den Pfeifferschen Influenzabazillus als den spezifischen Erreger an, andere nehmen als Ursache ein filtrierbares Virus an. Sahli stellt die Hypothese des „komplexen Virus" auf.

Wenn demnach die ätiologische Bedeutung des Pfeifferschen Bazillus auf Grund der neuesten Forschungen zum Mindesten fraglich ist, so wurde dieser Mikroorganismus bei Influenzakranken doch so häufig gefunden, daß man ihm, ahnlich wie den Pneumo- und Streptokokken, wenigstens eine Bedeutung als Mischinfektionserreger nicht völlig absprechen kann.

Es erschien unter diesen Umständen nicht ohne Interesse, das Problem der Influenza-Mischinfektion experimentell in Angriff zu nehmen, um so mehr, als der Pfeiffersche Bazillus in kultureller Hinsicht, wie im Tierversuch, sehr charakteristische Eigentümlichkeiten aufweist.

Wir stellten uns die Aufgabe, zu prüfen, wie sich der Influenzabazillus gegenüber anderen pathogenen und nicht-pathogenen Mikroorganismen einerseits in vitro, andererseits in vivo verhält.

Zu unseren Untersuchungen verwendeten wir 12 aus Sputum von Grippekranken gezüchtete und isolierte Influenzastämme, bei deren Gewinnung wir folgendermaßen vorgegangen waren: möglichst frisches Morgensputum akut an Grippe Erkrankter wurde in physiologischer Kochsalzlösung unter 4maligem Wechsel der Lösung gewaschen und in minimaler Menge auf Blutagarplatten, die nach Lewinthalscher Vorschrift (Technik siehe weiter unten) hergestellt waren, mit sterilem Glasstab ausgestrichen. Die Platten kamen dann in den Brutschrank und wurden nach 24 und 48 Std. untersucht. Influenzaverdächtige Kolonien wurden abgestochen und auf Lewinthalschen Blutagar überimpft.

Die eben beschriebene Technik bewährte sich bei unseren Untersuchungen mehr als das oft geübte Verfahren, die Patienten auf Blutagarplatten husten zu lassen. Während wir bei letzterem Vorgehen meist negative Resultate aufzuweisen hatten, konnten wir bei Anwendung der oben geschilderten Technik in ca. 80 Proz. der von uns untersuchten Fälle Influenzabazillen im Sputum kulturell nachweisen. Der Nachweis gelang sehr oft auch da, wo der direkte Ausstrich keinen Anhaltspunkt für das Vorhandensein von Influenzenbazillen gab. In schweren, mit Lungenkomplikationen verlaufenden Grippefällen fanden wir das Influenzastäbchen meist in großer Menge, nie allerdings in Reinkultur, sondern immer vergesellschaftet mit Pneumokokken, Streptokokken und Micrococcus catarrhalis. In anderen Fällen, namentlich dann, wenn die Krankheitserscheinungen schon im Abklingen begriffen waren, gelang es uns, die Influenzakolonien auf den Blutagarplatten nur in äußerst spärlicher Zahl und erst nach längerem Suchen zu finden.

Unsere Untersuchungen erstreckten sich auf die Zeit von Februar bis Mai 1919. Zumeist handelte es sich um Patienten des Zürcher Kantonsspitals.

Was die Identität der von uns gezüchteten und isolierten Influenzastämme anbelangt, so boten sie in jeder Hinsicht die von Pfeiffer als charakteristisch beschriebenen morphologischen und biologischen Merkmale dar: Die auf Blutagar nach 24 Std. gewachsenen Kolonien hatten einen Durchmesser von 1—2 mm, waren vollständig transparent und zeigten eine geringe Neigung zu konfluieren. Ueberimpfungen auf gewöhnlichen Glyzerinagar oder Ascitesagar blieben erfolglos. Nie war auf diesen Nährböden Wachstum zu erzielen. Abstrichpräparate, die von den verschiedensten Blutagarkolonien gemacht wurden, zeigten immer das typische Bild des gramnegativen Pfeifferschen Influenzastäbchens.

I. Der Influenzabazillus in Mischkultur.

Grassberger fand 1897 bei seinen Untersuchungen über die Bakteriologie der Influenza, daß die Influenzabazillen in ihrem Wachstum eine Begünstigung erfahren durch den Staphylococcus pyogenes aureus, daß also eine gewisse Symbiose zwischen den beiden Mikroorganismen stattfinde. Cantani entdeckte dieselbe Eigenschaft in Mischkulturen des Influenzabazillus mit Diphtheriebazillen und Gonokokken. Nach seinen Angaben soll unter Ausnutzung der wachstumsfördernden Eigenschaften dieser beiden Bakterienarten der Pfeiffersche Bazillus auf hämoglobinfreiem Agar gedeihen. Diese Angaben Cantanis wurden von Ghon und Preysz bestritten, von Luerssen wenigstens teilweise wieder bestätigt. Letzterer wies die wachstumsfördernde Eigenschaft gegenüber dem Influenzabazillus noch bei verschiedenen anderen Bakterien nach, namentlich auch bei Bacterium prodigiosum, Bact. violaceum, Vibrio Metschnikow. Neisser gelang es, den Influenzabazillus in Mischkulturen mit Xerosebazillen während mehrerer Generationen auf gewöhnlichem Agar weiterzuzüchten. Aehnliche Versuche waren noch angestellt worden von Meunier, Allen, Fichtner u. a.

Die Technik unserer Versuche zur Erzeugung von Mischkulturen war (nach zahlreichen, resultatlos verlaufenden Vorversuchen) folgende: Ein Tropfen einer Aufschwemmung von Influenzabazillen in steriler Bouillon (1—2 Normalösen frischer Agarkultur auf 1 ccm Bouillon) wurde mit sterilem Glasstab auf der jeweilen verwendeten Platte gleichmäßig flächenhaft ausgestrichen. 15—30 Min. später impften wir auf dieselbe Platte je eine Art der zur Untersuchung herangezogenen Mikroorganismen. Die Impfung geschah dabei so, daß auf die bereits mit Influenzabazillen beschickte Platte das betreffende andere Bakterienmaterial in mehreren dünnen Strichen mit sterilem Glasstab aufgetragen wurde (Cantani), oder daß nach dem Vorgehen von Grassberger die Mitte der Platte einen seichten Stich von dem betreffenden Bakterienmaterial erhielt. Die in der beschriebenen Weise beschickten Platten kamen in den Thermostaten und wurden nach 18, 24 und 48 Std. untersucht.

Um das Wachstum der Influenzabazillen in Mischkulturen zu prüfen, boten sich uns die verschiedensten Möglichkeiten, entsprechend einerseits den verschiedenen Nährböden, andererseits der großen Zahl der

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

pathogenen und nicht-pathogenen Mikroorganismen, die zu den Versuchen herangezogen werden konnten.

Es kamen folgende Bakterienarten zur Verwendung:

Pneumokokken, Streptokokken; Staphylococcus pyogenes albus, aureus, citreus; Micrococcus catarrhalis und flavus; Meningococcus, Gonococcus; Bact. coli, Typhus- und Paratyphusbazillen; Dysenteriebazillen; Diphtheriebazillen; Bact. pyocyaneum, Bacillus subtilis.
Ein Teil der genannten Bakterien (Pneumo-, Strepto-, Staphylokokken, Micrococcus catarrhalis und flavus) stammte ebenfalls aus Grippesputum.

Von den Nährböden kam — als für den Influenzabazillus am besten geeignet — in erster Linie in Betracht:

a) der nach Lewinthal hergestellte Blutagar. (Defibriniertes Kaninchenblut wird verflüssigtem Glyzerin-Pepton-Agar tropfenweise — ca. 1—2 Tropfen Blut auf 1 ccm — zugesetzt und dann das Blut-Agargemisch zum Zwecke der Sterilisation aufgekocht.)

Die Impfung der Platten geschah entsprechend der oben beschriebenen Technik. Dabei wurden von allen genannten Bakterienarten Mischkulturen mit Influenzabazillen hergestellt.

Diese auf Lewinthalschem Blutagar gewachsenen Mischkulturen boten nun allerdings nicht das erwartete Bild. Zwar konnte man jeweilen in der unmittelbaren Umgebung der punkt- oder strichförmig geimpften Bakterienkolonie ein vermehrtes Influenzabazillenwachstum konstatieren, jedoch war die Wachstumsbegünstigung nicht so in die Augen springend, wie sie namentlich Grassberger für Mischkulturen von Pfeifferschen Bazillen mit Staphylokokken geschildert hatte. Eine Wachstumsbegünstigung war insofern zu konstatieren, als die Influenzakolonien, die in unmittelbarer Nähe der anderen Bakterienkolonien sich befanden, etwas größer und dichter erschienen, oder auch zu einem schmalen, ringförmigen Rasen zusammenflossen. Dieses Bild war jedoch sehr oft nur bei Lupenvergrößerung sichtbar, und manche Bakterienarten schienen auf das Influenzabazillenwachstum überhaupt keinen Einfluß auszuüben.

b) Anders wurde die Sache, als wir entsprechend den Angaben von Grassberger vorgingen und statt des Lewinthalschen Blutagars gewöhnlichen Glyzerinagar verwendeten, dessen Oberfläche mit frisch entnommenem, sterilem Kaninchenblut bestrichen war (die ursprünglich von Pfeiffer angegebene Form des Blutagars). Das Verfahren war in diesem Falle so, daß die Influenzabazillen direkt in sterilem Kaninchenblut aufgeschwemmt wurden (1—2 Oesen frische Agarkultur in 1 ccm Blut). Von dieser Blutaufschwemmung wurde je 1 Tropfen auf gewöhnlichen Agarplatten mit dem Glasstab gleichmäßig ausgestrichen. Das weitere Vorgehen, d. h. die Impfung der anderen Bakterien, geschah in der bereits geschilderten Weise.

Auf diesen Platten nun zeigte sich schon nach 18 Std. ein typisches Bild, wie es nicht nur von Grassberger, sondern auch von Cantani, Ghon und Preysz u. a. gesehen und geschildert worden ist.

Wir beschreiben im Nachstehenden das Aussehen, welches in besonders typischer Weise die Mischkulturen von Influenzabazillen mit Micrococcus catarrhalis zeigten. Dabei ist immer zu berücksichtigen, daß auf diesen Mischkulturplatten der Influenzabazillus in unzähligen Kolonien auf der ganzen Platte, der Micrococcus catarrhalis aber in einer einzigen Kolonie im Zentrum der Platte gewachsen war (entsprechend der oben geschilderten Impftechnik).

Hatten wir die Agarplatte mit einer dünnen Aufschwemmung von Pfeifferschen Bazillen (1 Oese Agarkultur auf 1 ccm Blut) geimpft, so war nach 18 Std. bereits die zentrale Micrococcus catarrhalis-Kolonie von einem Hof von Influenzakolonien umgeben, die sich durch ihre Größe von den übrigen Kolonien der Platte deutlich abhoben. Dieser Hof von Riesenkolonien betrug in seinem Durchmesser ca. 1—2 cm, und war dadurch charakterisiert, daß die Influenzakolonien um so größer waren, je näher sie der zentralen Micrococcus-Kolonie standen. Nach der Peripherie zu wurden sie immer kleiner und näherten sich nach Größe und Aussehen mehr und mehr dem typischen Bild der Influenzakolonien in Reinkultur, wie man sie auf Pfeifferschem Blutagar erhält. Die von den verschiedensten Kolonien hergestellten Deckglaspräparate zeigten immer Bazillen vom Pfeifferschen Typus. Während die peripherwärts stehenden Kolonien als wasserhelle Tröpfchen erschienen, wiesen die um die Catarrhalis-Kolonie gelegenen leichte Granulationen auf.

Bei strichförmiger Impfung des Micrococcus catarrhalis oder bei Schrägstand der Platte im Thermostaten (Abfließen des Kondenswassers) erhielten wir in entsprechender Weise längliche Höfe von üppig gewachsenen Influenzakolonien, welche die Mikrokokkenkolonie umgaben.

War die Aufschwemmung der Influenzabazillen dichter (mehrere Oesen Influenza-Reinkultur auf 1 ccm Blut), so sah man nach 24 Std. um die zentrale Micrococcus-Kolonie einen ringförmigen, zusammenhängenden Rasen von Influenzabazillen ohne Einzelkolonien, währenddem nach der Peripherie hin immer kleiner werdende isolierte Influenzakolonien auftraten. Auch wir beobachteten dabei oft sogenannte Zwillingskolonien, d. h. Kolonien, deren eine Hälfte von Staphylokokken gebildet wurde, während die andere den transparenten Charakter der Influenzakolonien aufwies. Solche Bilder fanden sich namentlich dann, wenn zufällig auf den Platten Staphylokokkenkolonien sich entwickelten, und auf den primären Sputumplatten.

Die Begünstigung des Wachstums nach dem geschilderten Verfahren wurde nicht nur in Mischkulturen von Influenzabazillen mit Micrococcus catarrhalis beobachtet. Die meisten anderen der von uns untersuchten Bakterienarten wirkten in ähnlicher Weise begünstigend auf die Entwicklung des Pfeifferschen Bazillus. Immerhin bestanden nicht unerhebliche Unterschiede zwischen den einzelnen geprüften Mikroorganismen. Am deutlichsten war die wachstumsfördernde Wirkung bei Micrococcus catarrhalis und Micrococcus flavus (beide aus Influenzasputum gezüchtet), in ausgeprägtem Maße ferner bei Staphylokokken, Meningokokken, Streptokokken und Pneumokokken.

Das Umgekehrte — eine wachstumshemmende Wirkung — wurde konstatiert bei Bacterium pyocyaneum, wo die hemmende Wirkung gerade so weit zu reichen schien, als der Agar durch Diffusion des Farbstoffes grün gefärbt war, andererseits bei Bacillus subtilis. Bei letzterem bot die Versuchsanordnung insofern große Schwierigkeiten, als die ganze Plattenoberfläche nach kurzer Zeit schon überwuchert war. Durch Impfung in der Tiefe wurde die Schwierigkeit umgangen, und es war dann jeweilen im Umkreis von $^1/_2$ cm einer tiefgelegenen Subtilis-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

kolonie kein Wachstum von Influenzabazillen zu sehen, während die ganze übrige Platte von feinen Influenzakolonien übersät war.

Nachstehende Tabelle soll den jeweiligen Grad der wachstumsfördernden Eigenschaft der einzelnen Bakterienart andeuten, wobei die mit 3 Kreuzchen versehenen Bakterien als die am meisten wachstumsfördernden anzusehen sind, während das Minuszeichen eine Entwicklungshemmung bedeutet.

Bakterienart	Wachstumsbegünstigung gegenüber Influenzabazillen
Streptokokken	++
Pneumokokken	++
Staphylococcus pyog. alb., aur., citr.	++
Meningokokken	++
Micrococcus catarrhalis	+++
Microc. flavus	+++
Gonokokken	+
Bact. coli	+
Typhus- und Paratyphusbazillen	+
Diphtheriebazillen	++
Dysenteriebazillen	+
Bact. pyocyaneum	—
Bacillus subtilis	—

c) Eine weitere Reihe von Versuchen wurde mit Ascitesagar angestellt (verflüssigtem Agar wird bei 50° $^1/_4$ des Volumens Ascitesflüssigkeit beigemengt). Auf Ascitesagar ohne Blutzusatz wächst der Pfeiffersche Bazillus in Reinkultur nicht. Es war nun interessant, festzustellen, ob die geprüften Bakterienarten auch hier das Wachstum des Influenzabazillus ermöglichen würden. Es stellte sich heraus, daß in der Tat Micrococcus catarrhalis und flavus, Staphylokokken und Meningokokken in diesem Sinne wirkten. In der Umgebung der genannten Bakterienkolonien kam der Influenzabazillus in dichten Kolonien zur Entwicklung, die gegen die Peripherie zu kleiner wurden und in einer Entfernung von $^1/_2$—1 cm überhaupt nicht mehr angingen.

d) Es wurden noch ähnliche Versuche gemacht auf gewöhnlichem Peptonagar mit und ohne Glyzerinzusatz. Das Verfahren war wiederum das oben geschilderte, d. h. es wurden auf Agarplatten zuerst flächenhaft Influenzabazillen geimpft, dann punktförmige Impfungen mit den anderen genannten Bakterienarten vorgenommen. Wieder hatten wir die günstigsten Resultate bei Microc. catarrhalis und Microc. flavus. In der Umgebung dieser beiden Mikrokokkenarten war deutliches Influenzawachstum schon nach 18 Std. zu konstatieren. Die Influenzakolonien wiesen allerdings nicht die Größe der unter b) geschilderten Riesenkolonien auf, waren aber doch in den meisten Fällen von bloßem Auge sichtbar. Wieder erschienen die der zentralen Mikrokokkenkolonie zunächst stehenden Influenzakolonien am größten und wurden nach der Peripherie hin immer kleiner, während in einem Radius von $^1/_2$—1 cm entfernt von der Catarrhalis-Kolonie überhaupt kein Wachstum mehr zu sehen war.

Microc. catarrhalis und Microc. flavus waren die einzigen der von uns zu den Versuchen herangezogenen Mikroorganismen, die auf gewöhnlichem Agar ohne Blut- und Asciteszusatz ein Wachstum von Influenzabazillen ermöglichten. (Die Versuche wurden mehrmals wiederholt und ergaben immer das gleiche Resultat.)

Ein Unterschied zwischen glyzerinhaltigem Agar und solchem ohne Glyzerinzusatz war in bezug auf das Influenzawachstum nicht zu konstatieren.

e) Zum Schlusse wurden noch Versuche gemacht mit erstarrtem Rinderserum, dem $^1/_4$ des Volumens Traubenzuckerbouillon beigemengt war. Da der Pfeiffersche Bazillus hämoglobinophil ist, war es zwar selbstverständlich, daß er auf Blutserum allein nicht gedeihen würde; immerhin jedoch konnte die Möglichkeit von vornherein nicht ausgeschlossen werden, daß er in Mischkultur auch auf Serum zu wachsen imstande sei, besonders da es sich ja, wie bei Ascites, um ein wenig verändertes, dem lebenden Organismus entstammendes Nährmaterial handelte. Die Resultate waren jedoch vollkommen negativ. Weder allein geimpft, noch in Mischkultur mit anderen Bakterien ergab der Influenzabazillus auf Rinderserum auch nur das geringste Wachstum.

Die beschriebenen Verfahren wurden noch in verschiedener Weise modifiziert, ohne daß wir wesentlich andere oder neue Resultate dadurch erhielten. Erwähnen möchten wir noch, daß es auch uns, wie Ghon und Preysz gelungen ist, bei geringfügigem Zusatz von gekochtem und mit Normalnatronlauge versetztem Blut zu Peptonagar sehr üppiges Wachstum von Influenzabazillen in Mischkulturen zu erzielen.

Aehnlich Brown und Orcutt, verwendeten wir in einigen Fällen die wachstumsfördernde Eigenschaft der Staphylokokken etc., um auf den primären Sputumplatten die Influenzakolonien leichter zu finden. Nachdem das Sputum ausgestrichen war, wurden an einzelnen Stellen das Influenzawachstum stark fördernde Keime geimpft, in deren Umgebung jeweilen nach 24 Std. die Influenzakolonien üppiger als sonst gewachsen waren.

In einer folgenden Versuchsreihe stellten wir uns die Aufgabe, zu prüfen, inwiefern abgetötete Bakterienkulturen auf den Influenzabazillus wachstumsfördernd einwirken können. Es wurden zu diesen Untersuchungen die gleichen Bakterienarten verwendet, wie bei den Versuchen mit lebenden Mikroorganismen, vor allem wieder aus Grippesputum gezüchtete Pneumo-, Strepto-, Staphylokokken und Micrococcus catarrhalis. Cantani hatte auf Grund seiner Versuche angenommen, daß die in den Bakterien enthaltenen, das Influenzawachstum fördernden Substanzen bei höherer Temperatur zerstört werden. Um diese Angabe nachzuprüfen, erreichten wir die Sterilisation auf zwei verschiedene Arten:

1) Abtötung durch kurzes Erhitzen der Kulturen auf 100° C (Siedetemperatur), 2) Sterilisation durch Erhitzen während längerer Zeit (3 Std.) bei 60° C.

Ad 1. 24-stündige Schrägagar-(Glyzerin und Ascitesagar-)kulturen wurden während 10—15 Min. im Wasserbad auf Siedetemperatur erhitzt. Der verflüssigte Agar vermischte sich mit den auf seiner Oberfläche gewachsenen Kulturen zu einer homogenen Masse, die wir in der Kälte wieder schräg erstarren ließen. Gleich nach dem Erstarren wurden die Röhrchen mit Influenzabazillen geimpft, in den Brutschrank gebracht und nach 18, 24 und 48 Std. untersucht. Das Resultat war immer negativ. Ein Wachstum war bei keiner der geprüften Bakterienarten zu erzielen.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Wie vorher Agarkulturen, so wurden jetzt Bouillonkulturen der betreffenden Bakterien (ebenfalls 24 Std. alt) bei Siedetemperatur während ca. 15 Min. sterilisiert. Nach Abgießen des oberen Teiles der Bouillon vermischten wir den Bodensatz mit einer Aufschwemmung von Influenzabazillen und impften je 1 Tropfen des Gemisches auf Platten von Agar, Ascitesagar und Blutagar. Nach 24 Std. war Wachstum nur auf den Blutagarplatten zu konstatieren, ohne daß jedoch die Influenzakolonien größer oder zahlreicher erschienen, als auf den Kontrollplatten, die mit Influenzabazillen allein geimpft waren. Das Resultat war also auch hier ein negatives.

Ad. 2. Die Sterilisation der verwendeten Bakterienarten bei 60° erfolgte teils im Serumschrank (Agarplattenkulturen), teils im Wasserbad (Bouillonkulturen). Geprüft wurden wieder die eingangs erwähnten Bakterienarten.

a) Die sterilisierten Agarplattenkulturen beschickten wir nach erfolgter Abkühlung mit einer frischen Aufschwemmung von Influenzabazillen, und zwar wurden letztere zusammen mit den abgetöteten Oberflächenkulturen gleichmäßig auf der Platte verteilt. Die Untersuchung der Platten, welche nach 24—48-stünd. Aufenthalt im Thermostaten erfolgte, gab in allen Fällen ein negatives Resultat.

b) Die bei 60° C sterilisierten Bouillonkulturen wurden mit verflüssigtem Glyzerinagar von 45° C gleichmäßig gemischt und zu Platten gegossen. Diese Platten impften wir nach dem Erstarren mit Influenzabazillen und stellten sie in den Brutschrank. Nach 24 Std. bereits waren auf den meisten Platten feine, oft kaum ohne Vergrößerung sichtbare Influenzakolonien gewachsen. Das Wachstum der Pfeifferschen Bazillen war also hier ohne Hämoglobinzusatz erfolgt und lediglich bedingt durch die in den sterilisierten Bakterien enthaltenen fördernden Substanzen.

Auch auf Pfeifferschem Blutagar war die fördernde Wirkung der bei 60° abgetöteten Bouillonkulturen deutlich zu sehen: In Blut aufgeschwemmte Influenzabazillen wurden (je 1 Tropfen auf eine Platte) gleichmäßig flächenhaft auf Agarplatten geimpft. Nach $^1/_2$ Std. verteilten wir auf der einen Hälfte dieser Platten je 1 Tropfen vom Bodensatz der sterilisierten Bouillonkulturen gleichmäßig mit dem Glasstab. Es war nun interessant, zu konstatieren, daß nach 24 Std. auf der einen Plattenhälfte, und zwar auf derjenigen, welche mit den abgetöteten Bakterien beschickt war, die Influenzakolonien größer und zahlreicher erschienen, als auf der anderen Plattenhälfte.

Während also unsere Versuche mit auf 100° erhitzten Bakterienkulturen völlig resultatlos verliefen, gelang es uns, bei Mikroorganismen, die während 3 Std. auf 60° erhitzt und dadurch abgetötet worden waren, deutlich wachstumsfördernde Eigenschaften nachzuweisen. Von den geprüften Bakterien gaben am deutlichsten dieses positive Resultat: Microc. catarrhalis, Microc. flavus, Staphylo-, Strepto- und Meningokokken.

Einerseits bedingten diese abgetöteten Bakterien Influenzawachstum auf hämoglobinfreiem Nährboden, andererseits gediehen die mit den sterilisierten Mikroorganismen gemischten Influenzabazillen auf Blutagar zu größeren Kolonien, als wenn sie allein geimpft worden wären.

Erwähnt seien noch einige nicht ganz eindeutige Versuche mit gekochtem, statt frischem Blut und Sodazusatz (Ghon und Preysz).

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Ein geringer Zusatz von Sodalösung zu den toten Bakterienkulturen schien namentlich bei den säurebildenden Mikroorganismen einen günstigen Einfluß auf das Influenzawachstum auszuüben.

Es wurden nun endlich noch verschiedene andere Substanzen zu Versuchen herangezogen, um sie auf ihre wachstumsfördernden oder -hemmenden Eigenschaften dem Influenzabazillus gegenüber zu prüfen. Schon Pfeiffer hatte durch eingehende Versuche festgestellt, daß das organisch gebundene Eisen des Hämoglobins es ist, dessen der Influenzabazillus für sein Wachstum unter allen Umständen bedarf. Pfeiffer und nach ihm Ghon und Preysz u. a. hatten trotz zahlreicher Versuche mit verschiedenen eisenhaltigen Substanzen außer dem Hämoglobin keinen Stoff gefunden, der Influenzawachstum ermöglichte. (Mit Gallen- und Eigelbnährböden nach den Angaben von Richter und Nastjukoff haben wir keine Versuche angestellt.) Aus den verschiedenen Arbeiten ging hervor, daß neben dem Eisen noch ein Bestandteil der Fleischbrühe oder der Milch notwendig ist, d. h. ein Eiweißkörper und außerdem reduzierende Stoffe.

Versuche, die wir mit verschiedenen anorganischen und organischen Eisensalzen (Ferro- und Ferrizyankalium, glyzerinphosphorsaurem Eisen, Eisenalbuminaten) unter Zusatz von reduzierenden Substanzen und Eiweißstoffen anstellten, fielen immer negativ aus. Nie war bei Zusatz dieser eisenhaltigen Substanzgemische zu Glyzerinpeptonagar Wachstum von Influenzabazillen zu erzielen.

Kümmerliches Wachstum erhielten wir auf Sputumnährböden (Fichtner), d. h. auf Agar, dem sterilisiertes Sputum beigemischt war. Es waren hier wohl in erster Linie die im Sputum enthaltenen fördernden Keime, außerdem aber der Muzin- und Blutgehalt des Sputums, die ein Wachstum ermöglichten. Einen Unterschied zwischen tuberkulösem und nicht-tuberkulösem Sputum konnten wir bezüglich der Wachstumsermöglichung für Influenzabazillen nicht konstatieren.

Aus all den beschriebenen Versuchen geht mit Deutlichkeit hervor, daß der Influenzabazillus in seinem Wachstum durch andere Mikroorganismen stark beeinflußt wird. Ueber die Frage, auf welcher Eigenschaft des Pfeifferschen Bazillus oder der fördernden Begleitbakterien die Wachstumsbegünstigung beruht, ist schon verschiedentlich diskutiert worden, ohne daß man zu einem einwandfreien Schluß kam (Grassberger, Cantani, Allen u. a.). Ob die Beeinflußbarkeit des Influenzabazillus durch andere Mikroorganismen als eine Symbiose aufzufassen ist, oder ob es sich lediglich um fördernde Substanzen handelt, die in den Bakterienleibern, resp. in den Stoffwechselprodukten verschiedener Bakterien enthalten sind, diese Frage kann wohl dahin entschieden werden, daß eine eigentliche Symbiose kaum anzunehmen ist. Gegen eine Symbiose spricht die schon früher bekannte und auch aus unseren Versuchen einwandfrei hervorgehende Tatsache, daß die fördernde Eigenschaft auch abgetöteten Bakterien innewohnt, also offenbar einer in diesen Bakterien enthaltenen Substanz zuzuschreiben ist. Diese Substanz scheint ziemlich labil, d. h. durch höhere Temperaturen leicht zerstörbar zu sein, da die auf 100° erhitzten Bakterienkulturen nicht dieselbe günstige Wirkung ausüben, wie die bei 60° sterilisierten.

II. Verhalten des Influenzabazillus in vivo.

In früheren Influenzaepidemien, wie auch in der letzten Pandemie war es in der großen Mehrzahl der Fälle nicht gelungen, den Pfeifferschen Bazillus im Blute von Grippekranken mikroskopisch oder kulturell nachzuweisen. Pfeiffer und Beck hatten bei ihren zahlreichen Untersuchungen, mit sehr wenigen Ausnahmen, immer negative Resultate, und auch andere Autoren, wie Weichselbaum, Huber, Voges, Cantani, Jochmann konnten den Influenzabazillus im kreisenden Blute niemals nachweisen. Doch diese Befunde blieben nicht unumstritten, und glaubwürdige Autoren, wie Klein, Meunier etc., namentlich auch Ghedini, geben an, in einem großen Prozentsatz der Fälle den Pfeifferschen Bazillus im Blute gefunden zu haben. Der zuletzt genannte Autor fand 1907 gelegentlich einer Influenzaepidemie in 64 Proz. der Fälle den Influenzabazillus im Blute von Grippekranken. Ghedini fordert, daß man, um zu diesem Resultat zu gelangen, das Blut in genügender Menge (20—30 ccm) und bei noch fiebernden Kranken entnehmen müsse.

Im Verlauf der letztjährigen Epidemie teilten einige Autoren ebenfalls positive Resultate mit. Sie fanden den Influenzabazillus im Blute Grippekranker zum Teil in Reinkultur (Netter), zum Teil zusammen mit anderen pathogenen Mikroorganismen, wie Pneumokokken (Antoine und Orticoni, Orticoni und Barbié) oder gemeinsam mit Pneumokokken und Streptokokken (Orticoni und Barbié, Galli-Valerio).

In Anbetracht dieser sich widersprechenden Beobachtungen am Krankenbett war es angezeigt, die Frage auch im Tierversuch zu verfolgen, zumal das Problem des Verhaltens des Influenzabazillus im Tierkörper noch verhältnismäßig wenig studiert worden ist.

Pfeiffer und Beck wiesen nach, daß der Influenzabazillus, wenn man ihn in Reinkultur in die Ohrvene von Kaninchen injizierte, nicht imstande sei, sich im Tierkörper zu vermehren, sondern daß im Gegenteil ein rasches Absterben der Bazillen stattfinde. Der bei Injektion größerer Dosen erfolgende Tod der Tiere ist nach Ansicht der beiden Autoren lediglich eine Intoxikationserscheinung. Diese Tatsache wurde von Kolle und Delius bestätigt. Sie fanden, daß auch bei intraperitonealer Injektion der Influenzabazillus nicht in die Blutbahn gelange, sondern nur in der Peritonealhöhle sich vermehre. Jakobsohn konnte bei Mäusen Influenzaseptikämie erzeugen, wenn er gleichzeitig abgetötete Strepto- oder Pneumokokken injizierte. Diese Versuche waren von Kamen und von Saathoff auch für lebende Streptokokken bei gleichzeitiger intraperitonealer Injektion von Influenzabazillen bestätigt worden.

Wir gingen bei unseren Tierversuchen aus von Meerschweinchen. Dabei suchten wir in erster Linie festzustellen, inwieweit die uns zur Verfügung stehenden Influenzastämme tierpathogen seien. Es wurden zu diesem Behufe Meerschweinchen von ca. 250 g Gewicht abgestufte Mengen von Aufschwemmungen frischer Influenza-Agarkulturen je subkutan, intraperitoneal und intravenös injiziert. Die Resultate waren dabei folgende: bei subkutaner Injektion auch großer Mengen von Influenzabazillen (bis zu 3 Agarkulturen) gingen die Tiere nicht zugrunde. Es bildete sich an der Injektionsstelle jeweilen ein leicht

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

schmerzhafter Abszeß, dessen Punktion ein reichliches Vorhandensein von Influenzabazillen mikroskopisch wie kulturell ergab. Es schien eine Vermehrung der injizierten Bazillen in loco nicht stattzufinden, und unsere Versuche rechtfertigten auch die Annahme nicht, daß eine Vermehrung und Ausbreitung der Influenzabazillen auf dem Wege der Blutbahn sich vollziehe. Bei Tötung der Tiere und Untersuchung des Herzblutes oder bei steriler Blutentnahme am lebenden Tiere konnten wir nie, weder mikroskopisch noch kulturell, Influenzabazillen im Blute nachweisen.

Die intraperitoneal infizierten Meerschweinchen gingen erst nach Injektion sehr großer Dosen von Influenzabazillen (2—3 frische Agarkulturen) ca. 24 Std. nach der Injektion zugrunde, ohne daß es uns gelang, im Blute Pfeiffersche Bazillen mikroskopisch oder kulturell nachzuweisen. Der Tod war offenbar durch Intoxikation bedingt. Die Sektion zeigte blutig-seröse Peritonitis mit starker Injektion der Peritonealgefäße und Hyperämie der Bauchorgane. Im Peritonealexsudat fanden sich schon bei direkter mikroskopischer Betrachtung massenhaft Influenzabazillen, die auf Blutagar in Reinkultur wuchsen und bei späterer Injektion eine gesteigerte Virulenz aufwiesen, indem schon geringere Mengen ($^1/_2$ Agarkultur) genügten, die Meerschweinchen durch intraperitoneale Injektion zu töten.

4 Meerschweinchen, denen Influenzabazillen intravenös injiziert worden waren (bis zu 3 Agarkulturen unter sterilen Kautelen in die Vena jugularis), blieben sämtlich am Leben. Sie machten zwar kurz nach der Injektion einen schwerkranken Eindruck, erholten sich aber in der Folge ziemlich rasch und waren nach 12—24 Std. wieder vollkommen munter. Das steril entnommene Blut zeigte nach 24 und 48 Std. nur sehr spärliche oder gar keine Influenzabazillen. Dadurch war die Tatsache bestätigt (Pfeiffer und Beck), daß der Influenzabazillus sich im kreisenden Blut nicht vermehrt, sondern daß er im Gegenteil binnen kurzem zugrunde geht.

In ähnlicher Weise wie diese Meerschweinchen behandelten wir weiße Mäuse, indem wir subkutan und intraperitoneal verschieden große Mengen von Influenzabazillen (bis zu 3 Agarkulturen) injizierten. Auch hier war eine Septikämie nie zu erzeugen, selbst wenn die intraperitoneal infizierten Tiere bei größeren Injektionsdosen zugrunde gingen. Vom Herzblut angelegte Blutagarkulturen blieben in allen Fällen steril.

Nachdem wir durch diese einleitenden Versuche festgestellt hatten, daß der Influenzabazillus sich nach subkutaner, intraperitonealer und intravenöser Injektion im Organismus von Meerschweinchen und Mäusen nicht vermehrt, suchten wir nun zu konstatieren, welches Verhalten die Tiere bei gleichzeitiger Injektion von Influenzabazillen mit anderen tierpathogenen Bakterien zeigten. Wir wählten dabei zuerst Meerschweinchen als Versuchstiere (6 von je 250 g Gewicht), denen wir in mehreren Versuchsreihen abgestufte Mengen von Diphtherie- und Influenzabazillen subkutan injizierten. Da die verwendeten Diphtheriestämme eine große Virulenz aufwiesen, gingen die damit behandelten Tiere meist schon nach 24—48 Std. zugrunde. Die Sektion ergab jeweilen starkes Oedem und gerötete Nebennieren, also die typischen Kennzeichen des Diphtherietodes. Im Sekret der Injektionsstelle waren meist schon im direkten Ausstrich reichlich Influenza- und Diphtheriebazillen nachweisbar, ebenso gelang uns der kulturelle Nachweis. Wir hatten dabei aber nicht den Eindruck, daß eine Vermehrung der Influenzabazillen an Ort und Stelle stattgefunden habe. Im Herzblut waren in keinem einzigen Falle Influenzabazillen nachweisbar, weder mikroskopisch noch kulturell, so daß wir das Resultat dieser Tierversuche als negativ ansehen mußten, d. h. eine Vermehrung der Influenzabazillen bei Mischinfektion mit Diphtheriebazillen im Tierversuch nicht annehmen konnten.

Die mit Influenzabazillen allein behandelten Kontrolltiere waren immer am Leben geblieben.

Fußend auf den Angaben von Saathoff und Kamen, die ähnliche Versuche mit Mäusen gemacht hatten, verwendeten auch wir bei den ferneren Versuchen weiße Mäuse. Die neben den Influenzabazillen zu unseren Versuchen herangezogenen Mikroorganismen waren in erster Linie Streptokokken. In einer ersten Versuchsreihe kamen 5 Mäuse zur Verwendung. Maus 1 und 2 waren Kontrolltiere und erhielten die eine subkutan $^1/_2$ Bouillonkultur Streptokokken (24 Std. alt, infolge längerer Fortzüchtung auf Agar nicht sehr virulent), die andere ebenfalls subkutan eine Aufschwemmung einer ganzen Agarkultur Influenzabazillen. Den übrigen 3 Mäusen wurden abgestufte Mengen von frischen (24 Std. alten) Streptokokken-Bouillonkulturen zusammen mit je einer Agarkultur Influenzabazillen subkutan injiziert. Die Streptokokkenmengen wurden so abgestuft, daß Maus 3 den 4. Teil, Maus 4 die Hälfte einer frischen Bouillonkultur von Streptokokken und Maus 5 eine ganze Kultur erhielt, wie erwähnt, immer zusammen mit je einer frischen Agarkultur Influenzabazillen (in steriler Bouillon aufgeschwemmt).

Sämtliche Tiere, die Streptokokken erhalten hatten, gingen im Verlaufe von 18—48 Std. nacheinander zugrunde, je nach der Größe der Dosis, die sie bekommen hatten. Zuletzt ging Maus 1, der nur Streptokokken injiziert worden waren, ein. Maus 2, die Influenza-Kontrollmaus, blieb am Leben.

Der Sektionsbefund der mit Influenzabazillen und Streptokokken infizierten Tiere war folgender:

An der Injektionsstelle war nie Abszeßbildung zu konstatieren, die Gefäße der Subcutis waren jedoch leicht injiziert, und in 2 Fällen konstatierten wir allgemeines subkutanes Oedem. Die Milz erschien stark vergrößert. Im Sekret der Injektionsstelle waren Influenzabazillen und Streptokokken sowohl mikroskopisch wie kulturell nachweisbar. Ebenso konnten in dem steril entnommenen Herzblut in allen 3 Fällen neben wenig Streptokokken zahlreiche Influenzabazillen nachgewiesen werden.

Im Herzblut von Maus 5, die neben den Influenzabazillen eine ganze Bouillonkultur Streptokokken erhalten hatte, waren schon im direkten Ausstrich Influenzabazillen massenhaft zu sehen, neben weniger zahlreichen Streptokokken. Dabei waren die Influenzastäbchen meist zu kleineren oder größeren Häufchen geballt, ähnlich wie man es bei mikroskopischer Betrachtung von influenzabazillenhaltigem Sputum sieht. Bei Maus 3 und Maus 4 waren zwar ebenfalls im direkten Blutausstrich neben wenigen Streptokokken Influenzabazillen zu sehen; sie waren jedoch oft erst nach einigem Suchen — zu Häufchen geballt — sichtbar. Auf dem mit Herzblut bestrichenem Lewinthalschen Blutagar gingen jedoch in allen 3 Fällen im Verlauf von 24 Std. zahlreiche Influenzakolonien auf. Neben diesen Influenzakolonien sah man jeweilen die kleineren Kolonien der Streptokokken.

Maus 2, die Influenzabazillen allein in gleicher Dosis wie die übrigen Tiere (eine Agarkultur) erhalten, und die sich wieder erholt hatte, wurde nach 24 Std. getötet. Von ihrem Herzblut angelegte Kulturen blieben steril.

Die geschilderten Versuche wurden mit verschiedenen Mengen von Influenzabazillen und Streptokokken in mehreren Versuchsreihen wiederholt und ergaben immer das gleiche Resultat: es waren jeweilen nur dann Influenzabazillen im Herzblut nachweisbar, wenn zugleich mit den letzteren Streptokokken injiziert worden waren.

Aehnliche Versuche, die ein entsprechendes Resultat zeitigten, wurden mit Sputum gemacht. In abgestuften Mengen injizierten wir weißen Mäusen frisches Sputum zusammen mit Influenzabazillen unter die Haut des Rückens.

Wenn die Sputummenge genügte, um auf die Mäuse pathogen zu wirken, gingen die betreffenden Tiere jeweilen zugrunde, wobei immer eine Influenzasepsis zu konstatieren war. Wir fanden also auch hier eine Vermehrung des Influenzabazillus bei Anwesenheit anderer, tierpathogener Mikroorganismen, d. h. es war auch in diesen Fällen möglich, Mischinfektion zu erzeugen.

Injektionen großer Mengen nicht sehr virulenter Pneumokokken (Aufschwemmung von 3 frischen Ascitesagarkulturen in steriler Bouillon) zusammen mit Influenzabazillen zeitigten ein ähnliches Resultat. Wieder blieb das Blut der Influenza-Kontrollmaus steril, während die 3 mischinfizierten Tiere außer der Pneumokokkämie eine mehr oder weniger ausgesprochene Influenzasepsis aufwiesen. Mikroskopisch und kulturell waren im Herzblut Pfeiffersche Bazillen in reichlicher Menge nachweisbar.

Wie bei Beurteilung der kulturellen Versuche, so erhebt sich auch hier die Frage, wodurch wohl die Vermehrung der Influenzabazillen, ihre Einwanderung in die Blutbahn bei gleichzeitiger Anwesenheit von Streptokokken und anderen tierpathogenen Bakterien bedingt sei. Es sind dabei in erster Linie zwei Möglichkeiten zu erwägen: 1) kann es sich um gewisse symbiotische Verhältnisse zwischen den Influenzabazillen einerseits und den tierpathogenen Bakterien andererseits handeln, d. h. es wären ähnliche Bedingungen anzunehmen, wie sie aus unseren kulturellen Untersuchungen hervorgehen; 2) aber können wir auch annehmen, daß der infizierte Organismus durch die für ihn virulenten Streptokokken, Pneumokokken usw. in einer Weise geschädigt wurde, die eine Entwicklung des Influenzabazillus in der Blutbahn des kranken Tieres erst ermöglicht (vielleicht Zerstörung oder Abschwächung irgendwelcher im Blute vorhandener, dem Influenzabazillus in seiner Ausbreitung und seinem Wachstum schädlicher Stoffe).

Bei Betrachtung unserer Tierversuche erscheint es eigentlich merkwürdig — vorausgesetzt natürlich, man sei geneigt, den Influenzabazillus als Erreger der Grippe anzusehen — daß in den vielen untersuchten Fällen schon früherer Epidemien, wie auch der letzten, die Blutbefunde so häufig negativ ausfielen. Denn daran, daß der Influenzabazillus in zahlreichen Fällen von Grippe in die Blutbahn gelangt, ist bei dem immerhin nicht seltenen Vorkommen von Influenzameningitiden [1]), bei denen das Influenzastäbchen allein im Liquor gefunden wird, nicht zu zweifeln. Nur sind eben offenbar im Blute irgendwelche Stoffe vorhanden, die dem eindringenden Influenzabazillus in seiner Ausbreitung und Vermehrung entgegenwirken, die es also in den meisten Fällen nicht zu einer Septikämie kommen lassen. Außerdem ist das kreisende

---

[1]) Wir hatten am Zürcher Hygieneinstitut Gelegenheit, einige Fälle von Influenza-Meningitis zu beobachten, bei denen allerdings gewisse morphologische Unterschiede der Erreger gegenüber den im Sputum vorkommenden Influenzabazillen auffielen. Ueber Versuche, die zum Zwecke der Identitätsfeststellung der beiden Bakterienarten angestellt wurden, soll später berichtet werden.

Blut an und für sich schon ein schlechter Nährboden (wir erinnern vergleichsweise an Infektion mit Milzbrand, wo schon in sämtlichen Organen massenhaft Milzbrandbazillen sich vorfinden können, ohne daß im Blute Bakterien in größerer Menge nachweisbar sind).

Daß übrigens im menschlichen Organismus ähnliche Verhältnisse vorliegen wie im Tierversuch, beweisen die gerade in der letztjährigen Epidemie von mehreren Autoren erhobenen Blutbefunde, bei denen in den positiven Fällen meist neben dem Influenzabazillus noch Streptokokken oder Pneumokokken im Blute nachgewiesen wurden (Antoine und Orticoni, Orticoni und Barbié, Galli-Valerio).

Es handelte sich also in diesen Fällen um eine Misch- oder Sekundärinfektion, wobei es aber dahingestellt bleibt, ob der Influenzabazillus als eigentlicher Erreger der Krankheit anzusprechen ist, oder ob er sich erst sekundär im menschlichen Organismus entwickelt hat. Man kann ihm, wie es bis heute geschehen ist und zum Teil noch geschieht, die krankheitsätiologische Rolle zuerkennen; man kann aber anderseits auch im Sinne Sahlis einen einheitlichen symbiotischen Komplex von Mikroorganismen sich vorstellen, der als solcher die Infektion und die Krankheitserscheinungen der Grippe verursacht und wobei der Influenzabazillus die Hauptrolle spielt; drittens aber wäre noch an die Möglichkeit zu denken, daß, ähnlich wie bei Masern und Scharlach, ein ultravisibles, filtrierbares Virus der Krankheitserreger ist und daß die anderen im Blute oder im Sputum vorhandenen Bakterien erst sekundär in dem durch das filtrierbare Virus vorbereiteten Organismus sich vermehren konnten. Speziell beim Influenzabazillus hat die letzte Annahme viel für sich. Denn, da der Pfeiffersche Bazillus durch fast sämtliche anderen pathogenen Bakterien in seinem Wachstum gefördert wird, wäre es sehr leicht denkbar, daß auch das unsichtbare Grippevirus in diesem Sinne wirkt und den saprophytisch im Respirationstraktus lebenden Influenzabazillus in seiner Wachstumsmöglichkeit günstig beeinflußt. Es würde sich dabei um ein ganz ähnliches Verhalten handeln, wie es unsere Tierversuche gezeigt haben: der Influenzabazillus vermag erst dann sich im Organismus auszubreiten und event. pathogen zu wirken, wenn ihm von einem anderen Mikroorganismus durch irgendeinen wachstumsfördernden Einfluß die Bedingungen für eine weitere Ausbreitung geschaffen sind. Dieser andere Mikroorganismus wäre in diesem Falle der angenommene unsichtbare Grippeerreger.

Die häufigen Influenzabazillenbefunde bei Masern und bei Lungentuberkulose würden zwanglos auf ähnliche Weise erklärt werden können. Auch hier bestünde offenbar eine besondere Begünstigung des Influenzabazillus durch die Krankheitserreger: im 1. Falle durch das unbekannte filtrierbare Masernvirus, im 2. Falle durch den Tuberkelbazillus.

Eine endgültige Entscheidung erscheint uns einstweilen noch nicht möglich. Es wird, um zu einem definitiven Resultat zu gelangen, notwendig sein, nach vollständigem Erlöschen der Influenzaepidemie größere Versuchsreihen an verschiedenen Orten anzustellen mit dem Zwecke, das Vorkommen des Influenzabazillus überhaupt, d. h. auch bei Gesunden, eingehender zu studieren. Denn einerseits waren die bis jetzt geübten Untersuchungsverfahren häufig unzureichend, andererseits aber wurden über das Vorkommen des Pfeifferschen Bazillus während influenzafreien Zeiten noch kaum nennenswerte Untersuchungen angestellt.

Zusammenfassung.

In vorliegender Arbeit wurde das biologische Verhalten einiger Bakterienarten dem Influenzabazillus gegenüber in vitro und in vivo geprüft.

1) Bei den Versuchen mit Mischkulturen in vitro ist die Versuchstechnik wesentlich. Erst nach länger dauernden Vorversuchen konnten deutlich positive Resultate erhalten werden.

Auf hämoglobinhaltigem Agar nach Pfeiffer wurde in unseren Versuchen das Wachstum des Influenzabazillus stark gefördert bei gleichzeitiger Impfung mit:

Micrococcus catarrhalis, M. flavus, Streptokokken, Pneumokokken, Staphylokokken, Meningokokken, Diphtheriebazillen.

In besonders ausgeprägtem Maße zeigte sich diese wachstumsfördernde Eigenschaft bei Micrococcus catarrhalis und M. flavus.

Eine wachstumshemmende Wirkung hatten Bacterium pyocyaneum und Bacillus subtilis,

Auf hämoglobinfreiem Nährboden (Glyzerinagar, Ascitesagar), auf dem der Influenzabazillus allein nicht gedeiht, konnten wir durch gleichzeitige Impfung fördernder Keime Influenzawachstum erzielen. Diese fördernden Keime sind namentlich diejenigen Mikroorganismen, die zusammen mit dem Influenzabazillus im Sputum von Grippekranken gefunden werden, vor allem Micrococcus catarrhalis und Micrococcus flavus.

Die wachstumsfördernde Wirkung auf den Influenzabazillus konnte ebenfalls, wenn auch in geringerem Maße, mit den bei 60° abgetöteten Bakterienkulturen erzielt werden, während eine Erhitzung auf 100° die begünstigende Wirkung der betreffenden Bakterien aufhob.

2) Bei Mäusen und Meerschweinchen konnten wir nach Injektion von Reinkulturen eine Vermehrung der Influenzabazillen im Blute nicht nachweisen. Die verschiedenen, vom Herzblut angelegten Kulturen blieben steril.

Nach subkutaner Injektion größerer Mengen Influenzabazillen kam es nicht selten zu Abszeßbildung an der Injektionsstelle, bei intraperitonealer Injektion zu seröser Peritonitis. Die Tiere gingen dabei jedoch nicht zugrunde, sondern erholten sich nach einiger Zeit wieder. Im Blute waren nie Influenzabazillen nachweisbar.

Bei intraperitonealer Injektion sehr großer Mengen von Pfeifferschen Bazillen gingen die Versuchstiere nach kurzer Zeit zugrunde, ohne daß die injizierten Bakterien sich im Organismus des Versuchstieres vermehrt hätten. Der Tod der Tiere war lediglich eine Intoxikationserscheinung.

3) Bei subkutaner Injektion von Influenzabazillen zusammen mit Streptokokken gingen die Versuchstiere (weiße Mäuse) nach durchschnittlich 36 Std. zugrunde. Ausstrichpräparate und Kul-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

turen, die vom steril entnommenen Herzblut angelegt wurden, zeigten neben Streptokokken zahlreiche Influenzabazillen. In einigen Fällen war die Zahl der im Blute vorhandenen Influenzabazillen so groß, daß man von einer Influenzasepsis zu sprechen berechtigt war.

Mäuse, denen neben Influenzabazillen Pneumokokken (oder frisches Sputum) subkutan injiziert worden war, zeigten ein ähnliches Verhalten. Der Tod der Tiere erfolgte unter den Erscheinungen der Pneumokokkensepsis. Im Herzblut waren außer den Pneumokokken zahlreiche Influenzabazillen vorhanden.

Bei gleichzeitiger subkutaner Injektion von Diphtherie- und Influenzabazillen starben die Versuchstiere (Meerschweinchen) nach 24 bis 48 Std. Die Sektion ergab die Kennzeichen des typischen Diphtherietodes. Im Blute waren weder mikroskopisch noch kulturell Influenzabazillen nachweisbar.

Unsere Versuche in vitro und in vivo zeigen übereinstimmend, daß der Influenzabazillus von der Anwesenheit gewisser Begleitbakterien in hohem Maße abhängig ist.

Literaturverzeichnis.

Allen, Lancet. 1910. Vol. 1. S. 1264.
Antoine u. Orticoni, zit. nach Roussel et de Lavergne, Le Progr. méd. 1919. Nr. 33.
Brown u. Orcutt, Journ. of exp. méd. 1919.
Cantani, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 28. S. 743; Bd. 32. S. 692; Bd. 36.
Fichtner, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 35. 1904. S. 374.
Galli-Valerio, zit. nach Roussel et Lavergne, Le Progr. méd. 1919. No. 33.
Ghedini, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 43. 1907. S. 407.
Ghon u. Preysz, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 32. 1902. S. 90; Bd. 35. 1904. S. 531.
Grassberger, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 25. 1897. S. 453.
— Wien. klin. Wochenschr. 1897.
Huber, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 15. 1893. S. 454.
Jacobsohn, zit. nach Scheller in Kolle-Wassermann. Bd. 5. S. 1275.
Jochmann, Deutsch. Arch. f. klin Med. Bd. 29. 1901.
Kitasato, Deutsch. med. Wochenschr. 1892.
Klein, zit. nach Scheller in Kolle-Wassermann. B. 5. S. 1282.
Kolle u. Delius, Kolle-Wassermann. Bd. 5. S. 1275.
Lewinthal, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 86. 1918. S. 1.
Luerssen, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 35. 1904. S. 434.
Meunier, zit. nach Scheller in Kolle-Wassermann, Bd. 5. S. 1282.
Nastjukoff, Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 19. 1896.
Neisser, Deutsch. med. Wochenschr. 1903.
Orticoni u. Barbié, zit. nach Roussel et de Lavergne, Le Progr. méd. 1919. No. 33.
Pfeiffer, R., Deutsch. med. Wochenschr. 1892.
— Zeitschr. f. Hyg. Bd. 13. 1892. S. 357.
— u. Beck, Deutsch. med. Wochenschr. 1893.
Robertson, Brit. med. Journ. 1918/19.
Saathoff, München. med. Wochenschr. 1901 u. 1907.
Sahli, Corr.-Bl. f. Schweiz. Aerzte. 1919. No. 1 u. 7.
Voges, Berlin. klin. Wochenschr. 1894.
Weichselbaum, Wien. klin. Wochenschr. 1892.

Nachdruck verboten.

Die Verwendbarkeit der intrakutanen Tuberkulinprobe zur Diagnose der Meerschweinchentuberkulose.

Aus dem Veterinärinstitut der Universität Leipzig
(Direktor: Prof. Dr. Eber).]

Von Dr. med. vet. **Hermann Müller,** Institutsassistent.

Im Frühjahr 1911 hat Huber über eine größere Zahl von Versuchen berichtet[1]), die im Veterinärinstitut der Universität Leipzig zur Prüfung der Verwendbarkeit der subkutanen Tuberkulinprobe zur Diagnose der Meerschweinchentuberkulose angestellt worden sind und ergeben haben, daß sich die Tuberkulinüberempfindlichkeit tuberkulöser Meerschweinchen in Form der Thermoreaktion zum Nachweise der Meerschweinchentuberkulose nur sehr bedingt verwerten läßt. Im Sommer 1914 war mir Gelegenheit geboten, an einem gleichartigen Versuchsmaterial die praktische Verwendbarkeit der intrakutanen Tuberkulinprobe für den gleichen Zweck zu prüfen.

Nachdem verschiedene Autoren dargetan hatten, daß der intrakutanen Tuberkulinreaktion zur Feststellung der Tuberkulose eine gewisse Bedeutung zukomme, sollte ihre Brauchbarkeit an den im Institut gehaltenen, mit tuberkuloseverdächtigem Materiale infizierten Meerschweinchen dahingehend geprüft werden:

1) ob es nicht möglich sei, mit Hilfe dieser Probe einwandsfrei eine tuberkulöse Infektion nachzuweisen;

2) ob, was namentlich für die Untersuchungsanstalten in Frage kommt, das Ausbleiben der Reaktion mit Sicherheit auf eine Nichtinfektion mit Tuberkelbazillen schließen läßt;

3) ob mit Hilfe der intrakutanen Tuberkulinprobe bei den Versuchstieren die tuberkulöse Infektion früher nachgewiesen werden könne als durch die klinische Untersuchung;

4) ob unter den im Handel befindlichen verschiedenen Tuberkulinsorten hinsichtlich der Brauchbarkeit zur intrakutanen Probe ein wesentlicher Unterschied besteht.

Leider mußten die auf breiter Basis angelegten Versuche infolge Ausbruchs des Krieges unterbrochen werden und konnten nach dessen Beendigung aus Mangel an Material nicht mehr in der geplanten Weise fortgesetzt werden. Es sollen daher im Nachstehenden nur die aus den schon früher abgeschlossenen Versuche möglichen Schlüsse und Folgerungen erörtert und weiterer Nachprüfung anheimgestellt werden.

'Die intrakutane Tuberkulinreaktion besteht bekanntlich darin, daß bei tuberkulösen Tieren kurze Zeit nach der intrakutanen Einspritzung entsprechend verdünnten Tuberkulins eine äußerlich leicht feststellbare Hautreaktion eintritt, die es ermöglicht, ein tuberkuloseinfiziertes Meerschweinchen von einem nichtinfizierten zu unterscheiden.

---

[1]) Huber, E., Ueber die Verwendbarkeit der subkutanen Tuberkulinprobe zur Diagnose der Meerschweinchentuberkulose. (Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. 21. 1911. H. 6.)

Technik.

Bei der Durchführung der Versuche wurden, entsprechend der von Römer und Joseph (Beitr. z. Klin. d. Tuberkul. Bd. 14. 1909. S. 1) verfolgten Technik, die zur Verfügung stehenden Versuchstiere an einer möglichst pigmentlosen Stelle in etwa fünfmarkstückgroßer Ausdehnung geschoren und die Hare zur klaren, einwandfreien Feststellung der Reaktion mittels eines Enthaarungsmittels (Calciumhydrosulfid) entfernt. Das Präparat Kalkschwefelleber, Calcium sulfuratum, Ca(HS)2 wird mit Wasser zu einem Brei angerührt, der die Haare binnen wenigen Minuten in eine gallertige Masse verwandelt. Es ist dabei zu beachten, daß jede Reizung der Haut, die durch Rasieren oder durch zu lange Einwirkung des Enthaarungsmittels (länger als 2—3 Min.) vermieden wird, da durch den auf solche Art und Weise eintretenden Juckreiz die sichere Diagnose erschwert bzw. unmöglich gemacht werden kann. Nach gründlichem Abwaschen und Abtrocknen der enthaarten Stelle wurde in deren Mitte mit Hilfe einer mit feiner Kanüle versehenen Pravaz-Spritze 0,1 ccm einer Flüssigkeit intrakutan injiziert, die aus einer jedesmal frisch bereiteten Verdünnung eines Tuberkulins mit physiologischer Kochsalzlösung im Verhältnis 1 : 5 bestand.

Die intrakutane Tuberkulinprobe wurde ausgeführt:

a) an 61 Meerschweinchen mit Tb. V.[1], davon sicher tuberkulös 22 Tiere,
b) „ 44 „ „ Tb. H.[1], „ „ „ 20 „ ,
c) „ 47 „ „ Tb. Ph.[1] „ „ „ 20 „ ,
d) „ 35 „ „ Tb. B.[1] „ „ „ 6 „ .

Reaktionsformen.

Nicht infizierte, d. h. tuberkulosefreie, Meerschweinchen zeigen etwa 24 Std. nach der intrakutanen Einverleibung von 0,02 ccm Tuberkulin in der Umgebung der Einstichstelle in einzelnen Fällen eine Rötung, zum Teil auch eine Schwellung der Haut, die traumatischen Ursprungs sein dürfte, und schon nach spätestens 48 Std. wieder verschwindet. Aus diesem Grunde ist ein einwandsfreies Resultat erst nach Verlauf von 2 Tagen zu erheben.

Bei tuberkulösen Meerschweinchen entsteht, je nach dem Grade der Infektion und der Tuberkulinempfindlichkeit, etwa 24 Std. nach der Injektion eine leicht und sicher feststellbare Schwellung und Verfärbung der Haut in zweimarkstückgroßer Ausdehnung um die Einstichstelle. Die Verfärbung ist charakterisiert durch eine weiße, ringförmige Zone mit rotem Zentrum, die ihrerseits wiederum umgeben ist von einem roten Ring, der langsam in die übrige Hautfarbe übergeht. Das Zentrum dieser quaddelartigen Schwellung kann die Farben der Blutextravasate annehmen. Nach etwa 48 Std. geht die rote bis blaurote Farbe in die grünliche, gelbe und braune über und nach etwa 4 × 24 Std. tritt an Stelle des Blutextravasates eine oberflächliche Schorfbildung mit Abstoßung der oberflächlichen Hautpartien. Dieser Hautdefekt bildet sich in einigen Tagen wieder vollständig zurück. Diese Reaktion ist in den Tabellen mit +++ bezeichnet.

Außer dieser Reaktion tritt in manchen Fällen nach Verlauf von 24—48 Std. eine ebenfalls typische, von der vorausgehenden sich insofern unterscheidenden Reaktion auf, als bei der sich bildenden zweimarkstückgroßen Quaddel die durch den zentralen Bluterguß hervorgerufene Verfärbung fehlt und nur in einzelnen Fällen zentrale Schorfbildung eintritt. Diese Reaktion ist in den Tabellen mit ++ bezeichnet.

Neben diesen beiden äußerst markanten Formen der intrakutanen Reaktion findet man nun bei einem geringen Teil von Meerschweinchen, sei es hervorgerufen durch die Unempfindlichkeit dem Tuberkulin gegenüber, oder durch den geringen Virulenzgrad der Infektion, oder durch die größere Widerstandsfähigkeit des Organismus, eine nicht sehr typisch verlaufende Reaktionsform, die sich von der oben erwähnten einfachen traumatischen Reaktion nur durch eine stärkere zirkumskripte Rötung und Schwellung, und vor allem durch längeres Bestehenbleiben unterscheidet. Im Gegensatz zu den beiden typischen Reaktionen fehlt ihr die Quaddelbildung. Diese nach den nachstehenden Ergebnissen als zweifelhaft (+ ?) zu bezeichnende Form kann, wie aus den Tabellen ersichtlich ist, nicht mehr als positiv bezeichnet werden und liefert auch die meisten Fehlresultate.

Unter Berücksichtigung des Umstandes, daß die Resultate der Intrakutanreaktion nicht, wie es viele Autoren getan, nach dem Grade der Schwellung der betreffenden Hautpartie, sondern ausschließlich nach der Art der Veränderungen und Verfärbungen der oberflächlichen Hautschicht festgestellt wurden, ist leicht zu verstehen, daß stark

---

1) Tb. V. = Menschentuberkulin, hergestellt im Veterinärinstitut, Tb. H. = Tuberkulin Kochii Höchst, Tb. Ph. = Phymatin, Tb. B. = Bovotuberkulol.

pigmentierte (schwarze, graue) Tiere sich für unsere Versuche nicht eignen, weil positive und zweifelhafte Reaktionen sich bei diesen Tieren nicht deutlich genug voneinander unterscheiden lassen.

Die Reaktion wurde bei den zu den Versuchen verwendeten Meerschweinchen erstmalig 12 Std. nach der Einspritzung des Tuberkulins und dann in Zwischenräumen von 12 zu 12 Std. nachgesehen. Es zeigte sich dabei, daß nach 12 Std. nie, nach 24 Std. nur in einzelnen Fällen eine positive Reaktion zu erkennen war, und daß frühestens 36—48 Std. nach der Einspritzung ein stark positives von einem schwach positiven Resultat unterschieden werden konnte. In zweifelhaften Fällen konnte ein einwandsfreies Ergebnis erst nach Verlauf von 48 Std. festgestellt werden. Nach Verlauf von 4—5 Tagen bildete sich der Hautschorf langsam zurück, so daß nach 8—10 Tagen höchstens noch eine leichte Rötung die Stelle des Hautdefektes erkennen ließ.

a) Versuche mit Tuberkulin V.

Die Ergebnisse der 61 mit Menschentuberkulin-Veterinärinstitut behandelten Meerschweinchen sind unter Angabe der Art der Infektion am besten aus nachfolgender Tabelle zu entnehmen.

		Msch. Tb.	Milch	Schleim	Sonstiges Material	Summe
I. Tuberkelbazillen**haltiges** infektiöses Material. **Zahl der Fälle**		11	1	6	4	22
Reaktionen	+++	11	—	4	2	17
	++	—	1	—	1	2
	+?	—	—	1[2]	1[3]	2
	—	—	—	1[1]	—	1
II. Tuberkelbazillen**freies** infektiöses Material. **Zahl der** Fälle		11	18	4	6	39
Reaktionen	+++	1[4]	—	—	—	1
	++	—	—	—	—	—
	+?	2[4]	1[5]	—	2[6]	5
	—	8	17	4	4	33

Es haben demnach von den 22 mit tuberkelbazillenhaltigem Material infizierten Meerschweinchen

stark positiv (+++) reagiert 17 = 77,2 Proz.
positiv (++) „ 2 = 9,1 „
zweifelhaft (+?) „ 2 = 9,1 „
negativ (—) „ 1 = 4,6 „

---

1) Das in Frage stehende Meerschweinchen wurde mit Lungenschleim einer Kuh intramuskulär infiziert und zeigte bei der Sektion Tuberkulose der Lunge, Leber, Milz, Nieren und der inneren Darmbeinlymphdrüsen.

2) Auch hier handelte es sich um einen tuberkelbazillenhaltigen Schleim einer Kuh, der generalisierte Tuberkulose bei dem Meerschweinchen erzeugte.

3) In diesem Falle kommt ein mit einem linsengroßen Stück Milzknoten eines tuberkulösen Huhnes subkutan infiziertes Meerschweinchen in Frage, das bei der Schlachtung ein hirsekorngroßes, gelbkäsiges Knötchen in der einen Kniefaltendrüse zeigte. Es hat sich aber hierbei erst nach Verlauf von 60 Std. eine zirkumskripte Rötung eingestellt, während vorher die Reaktion vollständig negativ verlief.

4) In den 3 Fällen handelt es sich um Menschenmaterial nach 1-maliger Rinderpassage.

5) Es kommt hier eine nichtinfizierte Milch einer Kuh in Frage; die durch Schwellung und Rötung charakterisierte Reaktion hielt bis zu 60 Std. nach der Injektion an.

6) In dem einen dieser Fälle wurde das Meerschweinchen subkutan infiziert mit einem großen Stück Lungenknoten vom Huhn, und zeigte dasselbe bei der Sektion nur

Von den 39 mit tuberkelbazillenfreiem Material geimpften Meerschweinchen reagierten

stark positiv (+++) 1 = 2,6 Proz.
positiv (++) 0 = 0 „
zweifelhaft (+?) 5 = 12,8 „
negativ (—) 33 = 84,6 „

b) Versuche mit Tuberkulin H.

Die Resultate lassen sich analog dem vorangehenden aus folgender Tabelle entnehmen:

		Msch. Tb.	Milch	Schleim	Sonstiges Material	Summe
I. Tuberkelbazillen**haltiges** infektiöses Material. Zahl der Fälle		15	3	—	2	20
Reaktion	+++	14	3	—	—	17
	++	1	—	—	2	3
	+?	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	—	—
II, Tuberkelbazillen**freies** infektiöses Material. Zahl der Fälle		—	24	—	—	24
Reaktion	+++	—	1 1)	—	—	1
	++	—	—	—	—	—
	+?	—	1 2)	—	—	1
	—	—	22	—	—	22

Es haben demnach von den 20 mit tuberkelbazillenhaltigem Material infizierten Meerschweinchen

stark positiv (+++) reagiert 17 = 85 Proz.
positiv (++) „ 3 = 15 „
zweifelhaft (+?) „ 0 = 0 „
negativ (—) „ 0 = 0 „

und von den 24 mit tuberkelbazillenfreiem Material infizierten Meerschweinchen:

stark positiv (+++) 1 = 4,1 Proz.
positiv (++) 0 = 0 „
zweifelhaft (+?) 1 = 4,1 „
negativ (—) 22 = 91,8 „

---

eine sulzige Infiltration der Kniefaltendrüse; auch hier hielt die zweifelhafte Reaktion bis 60 Std. nach der Einspritzung an. Im anderen Falle kommt bei beiden Versuchstieren in Verkalkung begriffenes Material der retropharyngealen Lymphdrüse eines Schweines in Betracht, das keine krankmachende Wirkung auslöste und doch eine Schwellung und Rötung bis zu 96 Std. nach der Injektion bewirkte.

1) Das betreffende Meerschweinchen wurde mit tuberkelbazillenfreier Milch infiziert und zeigte bei seiner 57 Tage post infect. erfolgten Tötung eine sulzige Infiltration der Kniefaltendrüse.

2) Auch bei diesem Meerschweinchen wurde bei der Sektion eine sulzige Infiltration der Kniefaltendrüse neben einer Vergrößerung der Milz um ungefähr das Doppelte vorgefunden.

c) Versuche mit Tuberkulin Ph.

Die hierbei gewonnenen Resultate lassen sich aus nachstehender Tabelle entnehmen:

		Msch. Tb.	Milch	Schleim	Sonstiges Material	Summe
I. Tuberkelbazillen**haltiges** infektiöses Material. Zahl der Fälle		17	1	1	1	20
Reaktion	+++	15	—	—	1	16
	++	2	—	—	—	2
	+?	—	—	—	—	—
	—	—	1[1]	1[1]	—	2
II. Tuberkelbazillen**freies** infektiöses Material. Zahl der Fälle		—	27	—	—	27
Reaktion	+++	—	4[2]	—	—	4
	++	—	—	—	—	—
	+?	—	1[3]	—	—	1
	—	—	22	—	—	22

Von den 20 mit tuberkelbazillenhaltigem Material infizierten Meerschweinchen haben

stark positiv (+++) reagiert 16 = 80 Proz.
positiv (++) „ 2 = 10 „
zweifelhaft (+?) „ 0 = 0 „
negativ (—) „ 2 = 10 „

Von den 27 mit tuberkelbazillenfreiem Material infizierten Meerschweinchen zeigten

stark positive (+++) Reaktion 4 = 14,9 Proz.
positive (++) „ 0 = 0 „
zweifelhafte (+?) „ 1 = 3,7 „
negative (—) „ 22 = 81,4 „

d) Versuche mit Tuberkulin B.

Die Ergebnisse der mit Bovotuberkulol angestellten Versuche lassen sich aus nachfolgender Tabelle entnehmen:

		Msch. Tb.	Milch	Schleim	Sonstiges Material	Summe
I. Tuberkelbazillen**haltiges** infektiöses Material. Zahl der Fälle		—	2	4	—	6
Reaktion	+++	—	2	2	—	4
	++	—	—	1	—	1
	+?	—	—	1[4]	—	1
	—	—	—	—	—	—
II. Tuberkelbazillen**freies** infektiöses Material. Zahl der Fälle		—	29	—	—	29
Reaktion	+++	—	—	—	—	—
	++	—	—	—	—	—
	+?	—	2[5]	—	—	2
	—	—	27	—	—	27

---

1) In beiden Fällen handelt es sich um mit tuberkelbazillenhaltiger Milch bzw. Schleim infizierte Meerschweinchen, die bei der Sektion das Bild der generalisierten Tuberkulose aufwiesen.

2) Eines der 4 Meerschweinchen zeigte bei der 57 Tage post infect. erfolgten Tötung Schwellung der Milz um das Doppelte und sulzige Infiltration der Kniefaltendrüse, während die übrigen 3 bei der 30 bzw. 57 und 58 Tage nach der Infektion vorgenommenen Tötung vollständig frei von der Tuberkulose befunden wurden.

3) Bei der 55 Tage nach der Infektion erfolgten Tötung erwies sich das Meerschweinchen frei von tuberkulösen Veränderungen.

4) und 5) siehe S. 261.

Es zeigten von den 6 mit tuberkelbazillenhaltigem Material geimpften Meerschweinchen ein

stark positives	(+++)	Ergebnis	4 = 66,6	Proz.
positives	(++)	„	1 = 16,7	„
zweifelhaftes	(+?)	„	1 = 16,7	„
negatives	(—)	„	0 = 0	„

Von den 29 mit tuberkelbazillenfreiem Material infizierten Meerschweinchen reagierten

stark positiv	(+++)	0 = 0	Proz.
positiv	(++)	0 = 0	„
zweifelhaft	(+?)	2 = 6,9	„
negativ	(—)	27 = 93,1	„

Bei der Durchsicht der 4 Tabellen zeigt sich, sofern an Hand des zur Verfügung stehenden Materials überhaupt ein Urteil zu fällen ist, daß das

Tuberkulin V	Fehlresultate lieferte in	2,6	bzw.	4,6	Proz.	der	Fälle,
	zweifelhafte Resultate „	9,1	„	12,8	„	„	„
Tuberkulin H	Fehlresultate „	1	„	4,1	„	„	„
	zweifelhafte Resultate „	1	„	4,1	„	„	„
Tuberkulin Ph	Fehlresultate „	10	„	14,9	„	„	„
	zweifelhafte Resultate „	1	„	3,7	„	„	„
Tuberkulin B	Fehlresultate „	0	„	—	„	„	„
	zweifelhafte Resultate „	6,9	„	16,7	„	„	„

Soweit es überhaupt möglich ist, aus den mitgeteilten Versuchen Schlußfolgerungen zu ziehen, möchten wir diese folgendermaßen zusammenfassen:

Schlußsätze.

1) Der positive Ausfall der intrakutanen Tuberkulinprobe, beurteilt nach den S. 257 dargelegten Gesichtspunkten, spricht nicht in allen Fällen einwandsfrei für eine tuberkulöse Infektion.

2) Der negative Ausfall der intrakutanen Tuberkulinprobe ist nicht in allen Fällen beweisend für das Fehlen einer tuberkulösen Infektion.

3) Die intrakutane Tuberkulinprobe kommt somit in der von uns beim Meerschweinchen angewandten Form als Mittel zur Abkürzung der Versuchsdauer und zur Sparung von Versuchstieren nicht ernstlich in Frage.

4) Ein wesentlicher Unterschied in der Wirkung der benutzten Tuberkulinsorten scheint nicht zu bestehen. Das Ausbleiben von Fehlresultaten bei Tuberkulin B dürfte bei der verhältnismäßig kleinen Zahl von Versuchen, namentlich soweit tuberkulöse Versuchstiere in Frage kommen, nicht sonderlich ins Gewicht fallen und auch durch die hohe Zahl von zweifelhaften Resultaten wieder ausgeglichen sein.

Ob sich die Ergebnisse der Intrakutanprobe beim Meerschweinchen wesentlich anders gestalten, wenn neben den ohne weiteres sichtbaren

---

4) Das in Frage kommende Meerschweinchen war bei der Sektion mit generalisierter Tuberkulose behaftet.

5) Das eine der beiden Meerschweinchen ergab vollständig negativen Sektionsbefund, während das andere eine leichte Milzschwellung zeigte. Die 31 bzw. 42 Tage nach der Infektion vorgenommene Intrakutanprobe bewirkte bei dem ersteren neben Schwellung eine über 72 Std. anhaltende Gelbfärbung; das zweite zeigte nach 48 Std. Quaddelbildung mit gelbweißem Zentrum, die späterhin gelbe Verfärbung angenommen hat.

Veränderungen und Verfärbungen der Haut auch noch der Schwellungsgrad der Impfstelle durch genaue Messungen festgestellt wird, bleibt dahingestellt.

Ein abschließendes Urteil über die günstigste Zeit der Ausführung der Tuberkulinprobe gestattet das vorliegende Untersuchungsmaterial leider nicht, doch ergab die Gegenüberstellung von 7 in den ersten 10 Tagen nach der Infektion geprüften Meerschweinchen mit 39 zwischen dem 11. und 20. Tage nach der Infektion geprüften, daß die Zahl der Fehlresultate bei Prüfung vor dem 10. Infektionstage wesentlich größer ist als bei späterer Prüfung.

Schlußbetrachtung.

Auch die mit der Intrakutanprobe beim Meerschweinchen erzielten Ergebnisse berechtigen nicht, von der bisherigen Gepflogenheit alle mit tuberkuloseverdächtigem Materiale geimpften Meerschweinchen nach einer angemessenen Frist zur endgültigen Feststellung des Ergebnisses zu töten, abzugehen.

Nachdruck verboten.

Bakteriologische Untersuchungsergebnisse der Mannheimer Ruhrepidemie Juli bis November 1917.

2. Pathologisch-anatomischer Teil.

[Aus dem Pathologischen Institut der Mannheimer städtischen Krankenanstalten (Prosektor Dr. Loeschcke).]

Von Assistenzarzt Dr. **Seyler**.

Von dem im ganzen 153 Fälle umfassenden Material wurden 60 Fälle einer eingehenderen histologischen Untersuchung unterworfen. Es waren das diejenigen Fälle, bei denen die Agglutinationskraft des Leichenblutes für Dysenteriebazillen, daneben auch teilweise die des Blutes des Lebenden, bestimmt war. Die Auswahl nach diesem Gesichtspunkt war in der Absicht erfolgt, nach etwaigen Beziehungen zwischen serologischem und pathologisch-anatomischem Verhalten zu fahnden. Das Ergebnis in dieser Hinsicht war ein negatives. Man konnte etwa daran denken, daß sich in den Fällen mit hoher Agglutinationskraft auch im anatomischen Bild die Abwehrreaktion des Organismus in höherem Maße ausgesprochen finden würde. Weder fand sich bei den Frühfällen mit hohem Titer ein von den weniger oder gar nicht agglutinierenden Frühfällen irgendwie in eine Regel zu bringender gradueller Unterschied in der entzündlichen Reaktion, noch war dies bei den nach längerem Krankheitsverlauf Verstorbenen hinsichtlich der Reparationserscheinungen der Fall. Was das histologische Verhalten, für sich allein betrachtet, angeht, so seien einige Worte über das Wesentliche der Art vorausgeschickt, in der alle Präparate angefertigt wurden:

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Die aufgeschnittenen Därme wurden zur Fixation in 10-proz. Formalin eingelegt. Aus den verschiedenen Darmabschnitten, meist unterem Ileum, aufsteigendem, querem, absteigendem Colon, Rektum, wurden den ganzen Umfang des Darmrohres begreifende Querstreifen herausgeschnitten, gerollt und in Paraffin eingebettet. Die Schnitte wurden zunächst der Weigertschen Elastinfärbung unterworfen, dann in Delafieldsches Hämatoxylin gebracht, zuletzt in Indigkarmin-Pikrinsäure gefärbt und in der anschließenden Essigsäuredifferenzierung wurde die Kernfärbung mitdifferenziert. Außerdem wurde nach Weigert auf Fibrin gefärbt.

Im mikroskopischen Bild zeigte sich im wesentlichen Uebereinstimmung mit den in der grundlegenden Arbeit Heubners beschriebenen und oft wieder bestätigten Befunden. Allerdings ließ sich die Einteilung der für sich als Ganzes betrachteten Einzelfälle in katarrhalische und diphtherische Form nicht allgemein durchführen, so grundverschieden auch beide Bilder aussehen, weil sie sich so häufig nebeneinander im selben Fall vorfanden. Aber auch eine Einteilung auf Grund der Verschiedenheit der primären Gewebsschädigung, wie Löhlein sie vorschlägt, wäre beim hiesigen Material wegen der Uebergänge auf große Schwierigkeiten gestoßen. Was die Follikel betrifft, so möchte ich erwähnen, daß ich auch Bilder sah, wie sie Westenhöfer und Barber beschreiben. Bei einem Kinde, das am 3. Krankheitstage starb, fanden sich schon bei relativ gut erhaltener Mucosa im Innern der Knötchen nahe der Oberfläche Fibrinnetze und Nekrose. Auch die späteren Stadien bis zu den ausgesprochenen „Wasserflaschengeschwüren“ schienen mir den Beschreibungen in diesen Arbeiten zu entsprechen. Ein makroskopisches Bild, wie es die 1. der hübschen Abbildungen in der Veröffentlichung Westenhöfers bietet, fand sich häufiger und ebenfalls abwärts zunehmend, am stärksten im Colon descendens und Sigma. Neuepithelisierung fand sich in vereinzelten Fällen schon in der 2., gewöhnlich aber erst von der 3. Woche ab, meist verbunden mit dem Auftreten von Granulationszellen. Neben letzteren fanden sich schon früh sehr häufig Plasmazellen in der Submucosa. Zusammen mit der Epithelregeneration fielen in einem Fall mehrfache Gabelungen von Drüsenschläuchen auf. Auch in der Tiefe der Mucosa waren in späteren Stadien Bildungen zu sehen, die als Drüsenregeneration aufgefaßt werden mußten. Solche kommen offenbar nicht nur bei Dysenterie oder nur am Dickdarm vor. Es wird sich um eine ganz allgemeine Regenerationserscheinung am Magendarmkanal handeln. Eine Abbildung in Jores „Anatomische Grundlagen wichtiger Krankheiten“ zeigt ganz entsprechende Bildungen bei Atrophie der Magenschleimhaut bei perniziöser Anämie, die er von Herzberg als regenerative Neubildungen beschreiben ließ. Drüsenregenerationen an den Follikeln im Sinne von Löhleins Befunden habe ich nicht gesehen. Bei den durchgehend auch nach der Weigertschen Fibrinmethode gefärbten Präparaten fiel auf, daß fast ausnahmslos grampositive, schlanke Stäbchen hauptsächlich oberflächlich, aber auch manchmal im lebenden Gewebe lagen. Da mir ihr fast regelmäßiges Vorkommen erst später auffiel, haben wir leider nicht mehr unternehmen können, sie zu isolieren und ihr kulturelles Verhalten festzustellen.

Der makroskopische Befund ergab im allgemeinen keine neuen Gesichtspunkte gegenüber den in den Lehrbüchern schon niedergelegten Resultaten und vorgetragenen Anschauungen. Nur einen Punkt möchte ich erwähnen, den ich, einer Anregung von Herrn Prosektor Dr. Loeschcke folgend, im besonderen näher untersuchte, wobei sich ein von der gewöhnlichen Auffassung abweichendes Ergebnis fand. Es findet sich in der Literatur stets die Angabe, die Nekrosen und Geschwüre säßen vorwiegend einmal im allgemeinen auf der Höhe der Schleimhautfalten und so auch im besonderen auf den den Tänien entsprechenden Schleimhautstellen. Es wird damit erklärt, daß diese Orte bei den Zusammenziehungen des Darms am meisten von seinem Inhalt und den darin enthaltenen Bakterien getroffen werden. Bei dem hiesigen Material wurden auch zuweilen Nekrosen und seichtere Geschwüre vorzugsweise auf die Querfalten der Schleimhaut — besonders im unteren Ileum — lokalisiert gefunden oder auf die den Tänien entsprechenden Schleimhautleisten. Dagegen zeigten in Längsreihen im Dickdarm angeordnete, tiefe Geschwüre, wie wir sie häufiger sahen, ein anderes Verhalten. Die Lage der Geschwüre zu den Tänien wurde mittels durch die Darmwand gespießter Nadeln festgestellt. Dabei ließ sich zwar zuweilen eine Regel nicht aufstellen, weil die Anordnung nicht streng reihenmäßig war. Wo aber letzteres der Fall war, da fand sich auffallenderweise das umgekehrte Verhältnis: Die Geschwüre saßen nicht an den den Tänien entsprechenden Schleimhautstellen, sondern in den Längsfeldern dazwischen.

Histologisch ließ sich später dies Verhalten bestätigen, nur noch über den Tänien standen Pilze gut erhaltener Mukosa. Eine Erklärung für diese Lokalisation ließe sich aus dem anderen ganz allgemein beobachteten Verhalten geben, daß nämlich bei den früh Verstorbenen sich der Darm in meist stark kontrahiertem Zustande vorfand, während bei den Spätfällen meist eine ausgesprochene Paralyse des Darms an der Leiche zu sehen war. Die Fälle mit strenger Längsanordnung der Geschwüre zwischen den Tänien fanden sich nun fast durchgehend eben bei diesen Fällen, die erst nach längerem Bestehen des Krankheitsprozesses starben, vom Ende der 3. Woche ab. Wird, wie es beim gelähmten Darm der Fall ist, der Inhalt nicht fortbewegt, so wird er an den tiefsten Stellen sich sammeln, das sind aber die Räume zwischen den vorspringenden Leisten, die den Tänien entsprechen. Letztere verstreichen nicht etwa im gelähmten Darm, sondern sind, wie in solchen Fällen zu sehen war, höher. Es ist dies ganz erklärlich bei Berücksichtigung des im paralytischen Darm erhöhten Gasdrucks, der eine Folge des längeren Verweilens und der dadurch bedingten stärkeren Gärungsvorgänge der Ingesta ist. Der erhöhte Gasdruck wird die Stellen geringeren Widerstandes — und das sind offenbar die zwischen den Tänien gelegenen, dünneren Wandteile — stärker nach außen drücken, wodurch die Tänienstreifen stärker in die Darmlichtung vorspringen. Es ist wahrscheinlich, daß der erhöhte Gasdruck außerdem die Zirkulation in den weniger Widerstand leistenden Wandteilen behindert, mithin die Ernährungsbedingungen hier verschlechtert. Auf diese Schleimhautstellen wirkt nun der liegenbleibende Darminhalt, vor allem aber wohl der ihm beigemischte Eiter mit seinen stark gewebslösenden Fähigkeiten. Letzteres erschien besonders einleuchtend, wenn man die Fälle näher ins Auge faßte, bei denen ein Geschwür nach Durchsetzung sämtlicher Schichten der Darmwand in die freie Bauchhöhle durchgebrochen war. Die Durchbruchöffnung saß hier bei unseren Fällen immer in der Rückwand des Querdickdarms, welcher sonst stets die verhältnismäßig stärkste Gasfüllung zeigte. Die Rückwand des Darms wird aber bei der Rückenlage der Pat. auch eben am meisten den sich hierher senkenden und hier verweilenden gewebslösenden Eitermassen ausgesetzt sein.

Herrn Prosektor Dr. Loeschcke, der mich zu diesen Untersuchungen veranlaßte und dieselben durch reiche Anregungen förderte, möchte ich auch an dieser Stelle meinen herzlichsten Dank sagen.

Literatur.

Rokitansky, Lehrb. d. path. Anat. 3. Aufl. 1861.
Virchow, Kriegstyphus und Ruhr. (Virch. Arch. Bd. 52. 1871.)
Heubner, Dysenterie. (v. Ziemssens Handb. d. spez. Path. u. Ther. II, 1. 1874.)
Wesener, Unsere gegenwärtigen Kenntnisse über Dysenterie in anatom. u. ätiol. Hinsicht. (Centralbl. f. allgem. Path. u. path. Anat. Bd. 3. 1892.)
Ziegler, Lehrb. d. spez. path. Anat. 10. Aufl. 1902.
Ribbert, Lehrb. d. allg. Path. u. d. path. Anat. 3. Aufl. 1908.
Orth, Path.-anat. Diagnostik. 7. Aufl. 1909.
Schmaus-Herxheimer, Grundr. d. path. Anat. 9. Aufl. 1910.
Kaufmann, Lehrb. d. spez. path. Anat. 6. Aufl. 1911.
Raubitschek, Die bazilläre Dysenterie. (Lubarsch-Ostertags Ergebnisse d. allgem. Path. u. path. Anat. Bd. 16, 1. 1912.)
Aschoff, Verdauungsorgane. (Aschoff, Lehrb. d. path. Anat. 3. Aufl. Bd. 2. 1913.)
Jores, Anatomische Grundlagen wichtiger Krankheiten. 1913.
v. Hansemann, Ueber die Bedeutung der anatomischen Diagnose der Ruhr. (Berlin. klin. Wochenschr. 1916. No. 43.)
Ullmann, Ueber die sagokornähnlichen Klümpchen in den Ruhrentleerungen. (Med. Klin. 1916. No. 47.)
Beitzke, Zur anatomischen Diagnose der Ruhr. (Berlin. klin. Wochenschr. 1917. No. 26.)
Beneke, Zur Pathogenese, Behandlung und Prophylaxe der epidemischen Ruhr. (München. med. Wochenschr. 1917. No. 39.)
Löhlein, Zur pathologischen Anatomie der Ruhr. (Med. Klin. 1917. No. 6, 17, 18, 20, 21, 30.)
Westenhöfer, Ueber primäre noduläre Ruhr. (Berlin. klin. Wochenschr. 1918. No. 47.)
Barber, Beitr. z. path. Anat. u. Histol. der Ruhr. [Diss.] Heidelberg 1918.
Koelliker, Handb. d. Gewebelehre d. Menschen. Bd. 3. (v. Ebner). 6. Aufl. 1902.
Rauber-Kopsch, Lehrb. d. Anat. d. Menschen. 7. Aufl. Bd. 4. 1907.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über die Säureflockung von Proteus-Stämmen.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Bonn (Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. R. O. Neumann).]

Von Dr. **F. W. Bach,** Assistent am hygien. Institut Bonn.

Die durch die Fleckfieberforschung der letzten Jahre aufgefundenen Eigentümlichkeiten der verschiedenen Stämme des Bact. vulgare, der Proteus-Gruppe, legten den Gedanken nahe, die Angehörigen dieser Bakterienart auch auf ihr Verhalten zur sogenannten Säureagglutination zu untersuchen. Sowohl aus praktischen wie aus theoretischen Gründen erschien eine solche Untersuchung nicht ohne Interesse, da es von vornherein nicht undenkbar war, daß sich die Sonderstellung jener Proteus-Stämme, die zum Serum Fleckfieberkranker ein spezifisches Verhalten zeigen, auch in chemisch-physikalischer Hinsicht ausprägen würde. Falls diese Annahme zutraf, wäre ein bequemes Mittel zur Differenzierung dieser sogenannten spezifischen Stämme von den anderen, unspezifischen, an die Hand gegeben.

Da der Bakteriensammlung des Bonner hygienischen Institutes durch die Freundlichkeit von Herrn Dr. Zeiss-Hamburg eine Reihe von ihm in Kleinasien gezüchteter, spezifischer Proteus-Stämme überlassen worden war, denen zum Vergleich eine Anzahl Proteus-Stämme, die keine Beziehung zur Fleckfiebererkrankung gehabt hatten, gegenübergestellt werden konnte, so bestand die Möglichkeit, diese Frage an einem größeren Material zu prüfen.

Es handelte sich dabei im ganzen um 8 spezifische und 14 unspezifische Stämme des Bact. vulgare, gezüchtet auf neutralem Agar (Phenolphthalein).

Die Fleckfieberstämme tragen die Bezeichnung: X 19, X 2 (Weil-Felix), X S1, X S5, X S9, X S17, X S18, X S19 (Zeiss), die unspezifischen Stämme sind bezeichnet: Bac., 928, 931, Maus, 479, Welschb., 1138, 1669, Schw., Frklk., 1190, 980, Smmlg., J1. Mit Ausnahme von X2 und 1669 wurden sämtliche Stämme einer Agglutinationsprüfung mit Fleckfieberkrankenserum unterworfen. Für diese beiden Stämme stand mir dasselbe nicht mehr zur Verfügung. Die Stellung von X2 zum Fleckfieberkrankenserum ist aber aus der Literatur hinreichend bekannt. Stamm 1669 war aus Eiter gezüchtet, ist also zweifellos ein unspezifischer Stamm. Die Agglutination mit dem Fleckfieberserum, das einem Titer von 1:2000 für X19 hatte, ergab für alle spezifischen Stämme Agglutination in der Titerhöhe, X S17 wurde darunter etwas stärker als die anderen ausgeflockt, von den unspezifischen Stämmen zeigten unter 13 nur 5 spurenweise Ausflockung bei einer Serumverdünnung von 1:80, 2 bei 1:20. Gegenüber einem Normalserum hatte von den spezifischen X-Stämmen nur X S9 bei einer Serumverdünnung von 1:80 eine schwache Agglutination, desgleichen 2 der unspezifischen Stämme.

Die Säureflockung wurde in den 9 Gemischen von Milchsäure und milchsaurem Natron nach den Angaben von Beniasch[1]) geprüft; auf sie beziehen sich im folgenden die abgekürzten Bezeichnungen mit den Zahlen: I—IX. Nach Entfernung des Kondenswassers im Kulturröhrchen wurde eine gut gewachsene Kultur, nicht älter als 24 Std., mit 5 bis 6 ccm dest. Wasser abgespült und je 0,5 ccm der Aufschwemmung zu einem der Gemische hinzugefügt. Diese Aufschwemmung war etwas dichter als nach den Angaben von Michaelis u. a.; Kontrollversuche mit dünneren Aufschwemmungen ergaben aber keine wesentlichen Unterschiede; sie hatten eher den Nachteil, daß sich mit ihnen keine so deutlichen Bilder als mit den dichten erzielen ließen. Auch Liess[2]) hat, wie ich später sah, ziemlich dichte Aufschwemmungen zur Säureflockung verwendet. Ablesung der Resultate erfolgte mehrmals innerhalb einer Stunde, dann nach 15 und 40 Std.

In den ersten orientierenden Prüfungen wurden Kulturen benutzt, die in der üblichen Weise in Schlangenlinien auf Schrägagar geimpft waren. Diese scheinbar belanglose Angabe ist, wie später ersichtlich werden wird, nicht ohne Bedeutung für den Ausfall der Säureflockung gewesen. In solchen Kulturen sieht man meistens einen der Impflinie

---

1) Beniasch, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Orig. Bd. 12. 1912. S. 268.

2) Liess, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 83. 1919. S. 193.

entsprechenden, mehr oder weniger deutlich hervortretenden Wuchs neben dem für **Proteus** eigentümlichen, hauchartigen Wachstum, das die ursprünglich unbeimpften Flächen des Agars überzieht. Die mit diesen Kulturen angestellten Versuche ergaben, daß die Fleckfieberstämme ziemlich übereinstimmend reagierten, und zwar von den [H·] der Gemische II—IX ausgeflockt wurden; hinsichtlich der Stärke der Ausflockung bestanden nur geringe Unterschiede. Die unspezifischen Stämme zeigten dagegen untereinander kein so einheitliches Bild. Unausflockbar war kein Stamm; manche zeigten genau das Bild der spezifischen Stämme, einige wurden schon in I ausgeflockt, andere dagegen nur in einigen Gemischen hoher [H·], einige Stämme boten die Erscheinung der sogenannten unregelmäßigen Reihen, d. h. unterbrochene Ausflockung. Durchgreifende Unterschiede zwischen den X-Stämmen und unspezifischen Proteus-Stämmen bestanden also demnach nicht.

Angaben über die Säureflockung von **Proteus**-Stämmen finden sich in der Literatur nur gelegentlich anderer Untersuchungen und zwar bei **Eisenberg**[1]) und **Liess**[2]). Beide Autoren haben den Stamm X 19 und einen unspezifischen verwendet; ihre Angaben stimmen nicht überein. **Eisenberg** findet für beide den sogenannten „Enteritistypus“, d. h. Ausflockung bei [H·], die den Milchsäuregemischen V—IX entsprechen. **Liess** verzeichnet für X 19 nur eine engbegrenzte, schwache Ausflockung in den Milchsäuregemischen III—V, für den unspezifischen Stamm dagegen starke Ausflockung in allen 9 Gemischen.

War also durch diese Versuche bereits die Frage geklärt, ob sich die Methode der Säureflockung für praktische Zwecke zur Differenzierung spezifischer und unspezifischer **Proteus**-Stämme eignet, und zwar in verneinendem Sinne, so gaben die Resultate doch Anlaß, die hierbei aufgetretenen Erscheinungen weiter zu verfolgen; besonders forderte hierzu das bunte Bild der Ausflockungsart innerhalb der Gruppe der unspezifischen **Proteus**-Stämme auf. Denn, waren auch keine prinzipiellen Unterschiede zwischen spezifischen und unspezifischen Stämmen vorhanden, so bestanden doch ziemlich auffallend graduelle Unterschiede, in deren Wesen die Methode der Säureflockung vielleicht Einblick gestatten konnte.

Grote[3]) hat die Säureflockung als ein außerordentlich feines Reagens bezeichnet, um „Schwankungen in der Zusammensetzung des Protoplasmas zu registrieren, die sonst nicht nachweisbar sind“. Denn, im Gegensatz zur Serumagglutination, hat man es bei der Säureflockung nicht mit 2, sondern nur mit einer Unbekannten zu tun, da ja das Säuregemisch eine konstante Größe ist. Unter diesem Gesichtspunkt ist die Säureflockung selten zu Untersuchungen herangezogen worden; hauptsächlich hat man sie für praktische Zwecke zu verwerten versucht. In dieser Beziehung kommt ihr aber doch nicht die Bedeutung zu, die man anfänglich von ihr erhoffte, so daß jüngst **Eisenberg**[4]) auf Grund seiner umfangreichen Untersuchungen und unter Berücksichtigung der über die Säureagglutination vorliegenden Literatur zu dem Urteil kommt, daß die Säureagglutination weder als konstantes Artmerkmal, noch als zuverlässige differentialdiagnostische Methode anerkannt werden kann. Hat sie daher in dieser Hinsicht ihre Rolle ausgespielt, so ist doch andererseits nicht die Möglichkeit von der Hand zu weisen, mit ihrer Hilfe in den Chemismus der Bakteriensubstanz einzudringen, oder zum mindesten Unterschiede in der Zusammensetzung ein und derselben Bakterienart nachzuweisen.

---

[1]) **Eisenberg**, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 83. 1919. S. 70.
[2]) a. a. O.
[3]) **Grote**, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 73. 1914. S. 202.
[4]) **Eisenberg**, a. a. O.

Von diesen Gesichtspunkten aus betrachtet, schien gerade die Proteus-Gruppe ein geeignetes Objekt für weitere Untersuchungen abzugeben. Denn vor allem durch die Untersuchungen von Weil und Felix[1]) wissen wir, daß in serologischer Beziehung nicht nur bestimmt charakterisierte Varietäten dieser Bakterienart in ihrem Verhalten zur Fleckfiebererkrankung bestehen, sondern daß sich die einzelnen Proteus-Stämme in mindestens 2 verschiedene Varianten aufspalten oder umformen lassen, die O- und H-Form, deren serologische Eigentümlichkeit bei den spezifischen X-Stämmen zuerst nachgewiesen wurde. Denn ein Proteus-X 19-Immunserum ist nicht, wie anfänglich aus Analogieschlüssen zu erwarten war, identisch mit einem Fleckfieberserum, sondern nur ein solches, das aus der O-Form dieses spezifischen Stammes hergestellt wird. Es war daher naheliegend, zu untersuchen, ob diese so wunderbar fein abgestimmte Eigentümlichkeit der Bakterienzelle auch durch die Säureflockung festzustellen sein würde und ob etwa auf chemisch-physikalischem Wege dem Problem näherzukommen sei. Denn die bei den Untersuchungen der verschiedensten Bakterienarten festgestellten, wechselnden Ausflockungsweisen können letzten Endes nur ihre innere Ursache in der Eigenart der die Bakterien zusammensetzenden Substanzen haben. In dieser Hinsicht schienen einen gewissen Anhaltspunkt die Untersuchungen mit den kapseltragenden Bakterien der Friedländer-Gruppe zu bieten, die nach dem ersten Untersucher, Beniasch, sich durchweg unausflockbar erwiesen hatten, und von dem dieses Verhalten auch in Parallele mit einer schweren Beeinflußbarkeit durch homologe Sera gebracht wurde. Aber die Kapsel als solche konnte schon nach seinen Untersuchungen nicht den Grund für die Unausflockbarkeit abgeben, da ja auch andere unbekapselte Bakterien nicht ausflockbar waren; zudem hat später auch Gieszczykiewicz[2]) die Unausflockbarkeit kapselloser Friedländer-Stämme nachgewiesen. Die Ursache mußte also noch wo anders liegen, nicht in dem Vorhandensein einer Kapsel, sondern in den die Kapsel bildenden Substanzen, deren Art auch bei unbekapselten Bakterien die Säureflockung verhindern kann. Ob ferner die von den ersten mit der Säureflockung arbeitenden Untersuchern vermuteten Zusammenhänge mit rein serologischen Reaktionen bestehen, dafür konnten Untersuchungen mit den Proteus-Stämmen möglicherweise auch Aufklärung bringen.

Um die H-Form eines Proteus-Stammes zu erhalten, wurden die Stämme von mir nur in das am Boden eines frisch schrägerstarrten Agarröhrchens angesammelte Kondenswasser geimpft, so daß der Proteus gezwungen war, von selbst die freie Fläche des Agars zu bewachsen. Die meisten Stämme taten dies auch; einigen älteren Laboratoriumsstämmen mußte aber die Fähigkeit erst durch wiederholtes Ueberimpfen anerzogen werden. Gewisse graduelle Unterschiede bestanden in dieser Beziehung deutlich bei den verschiedenen Stämmen,

---

1) Weil u. Felix, Wien. klin. Wochenschr. 1917. S. 1509.

2) Gieszczykiewicz, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Orig. Bd. 24. 1916. S. 482.

vor allem bei den „wilden“ Proteus-Stämmen; die X-Stämme bereiteten keine Schwierigkeiten. Das Alter der künstlichen Fortzüchtung war dabei weniger ausschlaggebend; eher schien die individuelle Eigenart des betreffenden Stammes eine Rolle zu spielen. Eine O-Form war nur bei einigen unspezifischen Stämmen, die lange in Kultur gehalten waren, natürlich vorhanden; sie wurde daher künstlich nach dem Vorgange von Braun und Salomon[1]) durch Züchtung auf karbolhaltigem Agar zu erhalten versucht (zu 10 ccm Agar 0,15—0,2 ccm einer 5-proz. Lösung von Acid. carbol. liquefact., eine Menge, die sich mir nach vergleichenden Versuchen als die geeignetste zur Unterdrückung des Schwärmens erwies, die etwas geringer ist, als es dem von Braun und Salomon angegebenen Verhältnis von 2—3 ccm 5-proz. Karbolsäure zu 100 ccm Agar entspricht).

Die Ergebnisse der Säureflockung der in dieser Weise aufgespaltenen Proteus-Stämme waren folgende:

A. H-Formen.

1) Fleckfieberstämme.

Die H-Formen sämtlicher X-Stämme zeigten weitgehendste, ja fast völlige Uebereinstimmung in ihrem Verhalten zu den Milchsäuregemischen. 3 Stämme zeigten schon in I Flockung; bei den übrigen 4 lagen sie in II. Die Ausflockung war von Röhrchen IV oder V an meistens fast momentan nach dem Zusatz der Aufschwemmung zu beobachten; nach $^1/_4$ Std. war sie von III an regelmäßig vorhanden, im Verlaufe einer Stunde auch in II bzw. I.

Außerordentlich charakteristisch erwies sich, besonders im Hinblick auf die ersten und auch auf spätere Versuche, das hierbei auftretende Bild der Ausflockung, so daß es im folgenden kurz beschrieben werden soll; vor allem, da es sich als eine ganz konstante Erscheinung erwies. Es stellt sich nach Ablauf des Flockungsprozesses, innerhalb ungefähr 10 Std., folgendermaßen dar: In denjenigen Röhrchen, in denen der Prozeß beginnt, I oder II, tritt meist eine nicht ganz vollständige Ausfällung auf, die sich als wolkige, lockere Sedimentierung charakterisiert; häufig ist auch bereits hier eine totale Klärung vorhanden. Diese besteht dann aber durchweg in allen anderen Röhrchen. Das Sediment zeigt dabei bei fortschreitender [H·] ein typisches Verhalten: es durchläuft eine abgestufte Skala von Flocken. In dem zunächst dem Anfang liegenden Röhrchen, manchmal auch noch in einem weiteren, sind die geflockten Bakterien kompakt zu einem Klumpen verbacken, der sich schwer gleichmäßig aufschütteln läßt; in den weiteren Röhrchen erscheint ein grobes, fetziges Netz, das sich mehr und mehr verteilt, bis von VI oder VII ab feine Flocken auftreten. Dieses Bild ist bei der H-Form z. B. des X 19 so konstant in typischer Weise zu erhalten, daß ich es direkt als Kontrolle benutzen konnte, wenn eine neue Menge Agar als Kultursubstrat benutzt werden mußte und ich einen Anhaltspunkt dafür haben wollte, ob sich das neue Material nicht wesentlich vom vorher benutzten unterschied. Denn verschiedentlich, letzthin noch von Eisenberg[2]), sind für abweichende Ausflockungen Besonderheiten und Veränderungen chemisch kaum nachweisbarer Art in der Nährbodenzusammensetzung verantwortlich gemacht worden.

---

[1]) Braun u. Salomon, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 82. 1918. S. 243.
[2]) Eisenberg, a. a. O.

Auf die Bedeutung der Art des Flockungsbildes, auch auf die Bedeutung des zeitlichen Eintrittes der Ausflockung, hat bereits Heimann[1]) hingewiesen; er glaubt, daß eine eingehendere Untersuchung dieses differenten Flockungsmechanismus theoretisch von Bedeutung sein könne. Sonst ist im allgemeinen hierauf wenig geachtet worden, da man sich für praktische Zwecke mit der summarischen Feststellung der Flockung begnügen konnte. Heimanns an Typhusbakterien gewonnenen Beobachtungen scheinen mir nach den an den O- und H-Formen der Proteus-Stämme gewonnenen Feststellungen in besonderer Beleuchtung. Da Typhus- und Paratyphusstämme nur sehr engbegrenzt ausflocken, die Ausflockung der Proteus-Stämme sich aber über ein ausgedehntes Gebiet erstreckt, so kommen hier Abweichungen in der Flockungsweise leichter zur Beobachtung. Denn, um dies hier vorwegzunehmen, scheinen Absonderlichkeiten in der Flockungsweise jener Bakterien, vor allem die Unausflockbarkeit mancher Stämme, auf in wechselnder Menge vorhandenen, biologisch verschiedenen Komponenten zu beruhen, für die sich in den O- und H-Formen der Proteus-Stämme schon ein äußerlich bemerkbares Analogon finden könnte, das bei jenen Bakterienarten nicht so ohne weiteres zu beobachten ist.

Von einem Flockungsoptimum kann man unter diesen Umständen bei den H-Formen der X-Stämme nicht gut sprechen, da über mindestens 7 Röhrchen eine maximale Flockung zu beobachten ist; man kann nur die minimale und maximale flockende [H·] angeben; die minimale liegt im allgemeinen bei $[H^\cdot] = 3{,}5 \cdot 10^{-5}$, die maximale über $4{,}4 \cdot 10^{-3}$.

2) Nicht-Fleckfieberstämme.

Zeigte die Säureflockung der H-Formen der X-Stämme sofort eine ganz erstaunliche Uebereinstimmung, so war dies bei den H-Formen der unspezifischen Stämme durchaus nicht der Fall. Von diesen 14 Stämmen wiesen in der 1. H-Kultur nur 7 das typische H-Flockungsbild der spezifischen Stämme auf (J 1, Smmlg, Frklk., 980, 1190, 1669, Schw.); bei den beiden letzten Stämmen (Schw., 1669) kam es allerdings (auch nach 40 Std.) nicht zur vollkommenen Klärung, ein ganz geringer Rest blieb unausgefällt. Von den übrigen 7 Stämmen zeigte ein Teil das H-Flockungsbild nur angedeutet. Da aus diesem Grunde zu vermuten war, daß die H-Form, trotz der Kondenswasserimpfung, nicht rein vorgelegen habe, so wurden die H-Formen dieser Stämme täglich in der gleichen Weise weitergeimpft, um sie sozusagen durch Auslese rein zu erhalten. Bei manchen jener ersten H-Kulturen konnte man auch auf der Agarfläche das Auftreten von kleinen, umschriebenen, dichten Kolonien neben dem hauchförmigen Bewuchs feststellen, die wohl als besondere Varianten zu deuten waren. Im Verfolg derartiger Auslesen ließ sich nun auch von 6 Stämmen (Maus, Baz., 931, Welschb., 1138, 928) bei zweien (1138, 928) bereits nach einer 2. H-Kultur das typische H-Flockungsbild der spezifischen Stämme erzielen; bei den übrigen 4 wurde auch nach mehrfacher Ueberimpfung das Bild nicht absolut typisch, es trat wohl das H-Flockungsbild auf, zum Teil sehr deutlich, aber es kam doch nicht zur völligen Klärung, ein Zeichen, daß die H-Form entweder immer noch nicht rein vorhanden gewesen, oder

---

1) Heimann, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 16. 1913. S. 127.

überhaupt nicht gleicher Natur war. 1 Stamm (479) verhielt sich dauernd atypisch, er war auch bei allen früheren Prüfungen aus dem Rahmen der übrigen herausgefallen. Das H-Flockungsbild war wohl angedeutet, daneben bestand aber noch starke Trübung, vor allem war die Flockung in den letzten Röhrchen, von VI an nur ganz schwach vorhanden. Von diesen letzten 5 Stämmen (479, 931, Welschb., Baz., Maus) waren Kulturen verwendet worden, die 15 Std. bei 37° gehalten worden waren und ein einwandfreies, hauchartiges Wachstum zeigten, um die H-Formen möglichst frisch zu haben. Da aber immerhin die Möglichkeit bestand, daß auch diese Zeit noch für das Auftreten irgendwelcher Modifikationen ausreichend sein konnte, so wurden in einem Versuche auch 6-stünd. Kulturen verwendet. Der Ausfall der Säureflockung war aber nicht anders. Dies spricht dafür, daß sich die H-Form dieser Stämme von vornherein bereits von der der anderen Stämme unterscheidet.

Wenn man auch die Möglichkeit nicht ganz von der Hand wird weisen können, daß in älteren Kulturen Varianten auftreten, so spricht doch für eine primär angelegte Verschiedenheit auch folgender Versuch, bei dem eine 7 Tage alte H-Kultur des X 19 keine Veränderungen irgendwelcher Art, sondern das typische Flockungsbild einer frischen Kultur aufwies.

B. O-Formen.

1) Fleckfieberstämme.

Spontane O-Formen wurden bei den vorliegenden Fleckfieberstämmen nicht beobachtet; es wurden daher die durch Züchtung auf Karbolagar entstehenden verwendet, und zwar zuerst die nach einmaliger Passage (= 2. Karbolkultur). Es zeigte sich nun ein von dem der H-Formen gänzlich abweichendes Verhalten. Die Ausflockung in den ersten Röhrchen bis V oder VI war außerordentlich schwach; das in diesen Röhrchen bei den H-Formen auftretende wolkige, kompakte, fetzige Sediment war nie zu beobachten; erst von V oder VI an aufwärts war totale Ausflockung vorhanden, in lockerer, flockiger Form, nicht so fein wie bei den H-Formen. In dieser ersten Serie war das Bild bei allen 8 Stämmen ganz übereinstimmend, so daß man vermuten konnte, daß eine gewisse Gesetzmäßigkeit im Verhalten der O-Formen zu den Säuregemischen vorzuliegen schien, und zwar eine Verschiebung der Ausflockbarkeit nach rechts zu den Gemischen mit höherer [H˙]. Spätere Versuche aber zeigten, daß diese nicht streng vorhanden ist. Dagegen zeigte sich in dem Ausflockungsbilde etwas, was sich, im Gegensatze zu den H-Formen, als charakteristisch herausstellte (s. später).

2) Nicht-Fleckfieberstämme.

Die ersten Versuche mit den O-Formen dieser Stämme (2. Karbolkultur) erweckten ebenfalls den Anschein, als ob die Flockbarkeit zurückgedrängt würde. Von den 14 Stämmen wurde 1 (479) überhaupt nicht mehr geflockt, 1 (Bac.) nur von VI an ganz gering, 2 (931, Maus) wurden in VII und VIII fast total, in IX total ausgefällt, 2 Stämme von VI an (J 1, 1138), 4 weitere Stämme (Welschb., 1669, 980, Schw.) von VII an, wobei bei einigen ein ganz plötzlicher Uebergang von schwacher zu totaler Ausflockung auftrat. 2 Stämme aber zeigten ganz abweichendes Verhalten, indem der eine (Frklk.) schon in III, der andere (1190) sogar in II total gefällt wurde. Diese beiden Stämme würden demnach auf die Säuregemische in beiden Formen gleich reagiert haben, wenn nicht ein auffallender Unterschied im Flockungsbild bestanden hätte. Ihre H-Formen hatten das typische H-Flockungsbild gehabt; hier bei den O-Formen war von jenem wolkigen, kompakten, fetzigen Niederschlag nichts zu sehen, sondern er war in allen total gefällten Röhrchen durchaus gleichmäßig lockerflockig; jedenfalls ein Ausdruck dafür, daß beide Fällungen nicht identisch waren.

Die Vermutung, daß sich also O- und H-Formen durch das Minimum der Flockungen [H˙] etwa unterscheiden würden, wurde durch die Beobachtung an diesen beiden letzten Stämmen hinfällig. Da ferner auch in diesen Reihen sich nicht etwa das H-Flockungsbild andeutungsweise zeigte, so konnte man weiter schließen, daß keine Mischung mit der H-Form vorliege, daß also in dieser 2. Karbolkultur die O-Form etwa noch nicht rein vorliege. Die Annahme war ja nicht unwahrscheinlich, daß sich vielleicht, wie bei den H-Formen, durch fortgesetzte Züchtung auf karbolhaltigem Agar die O-Form immer reiner, ohne etwaige Beimengungen erhalten ließe. Derartige an einigen spezifischen und unspezifischen Stämmen bis zur 14. Karbolkultur fortgesetzte Versuche sowie einige Kontrollversuche in 1. und 2. Karbolkultur ließen aber erkennen, daß hier hinsichtlich der Grenze der Flockbarkeit nicht die geringste Gesetzmäßigkeit aufzufinden war; dieselbe wechselte ganz regellos. Denn es konnten die Kulturen ganz unvermittelt hintereinander sowohl stark wie nur mäßig verminderte Ausflockung wie aber auch eine ganz frühe Ausflockung aufweisen. Charakteristisch war, wie schon früher, nur das Flockungsbild, wenn es bei schwachen [H˙] zur Ausfällung kam, da hier immer nur lockere Flocken zu beobachten waren, auch bereits in den ersten Röhrchen.

Es war nun des weiteren zu bedenken, ob diese Karbol-O-Formen nicht etwa ganz andere Eigenschaften als die natürlichen O-Formen aufweisen könnten, denn Felix und Mitzenmacher¹) haben beide Formen als verschieden bezeichnet. Es war daher notwendig, auch spontan auftretende O-Formen der Säureflockung zu unterziehen. Diese Frage zu prüfen, war leider nur an einem sehr beschränkten Materiale möglich. da die natürliche O-Form, wie auch von anderen Untersuchern, wie z. B. Braun und Schaeffer²), bemerkt wird, selten auftritt. Unter meinen Fleckfieberstämmen konnte ich sie nicht beobachten, dagegen bei 3 Nichtfleckfieberstämmen (Frklk., Smmlg., J_1). Jedoch auch hier ergaben die Versuche eine gänzlich wechselnde Ausflockungsweise: Stamm Frklk. flockte bereits in III fast total aus, St. Smmlg. zeigte von II—IV schwache Flockung, von V—IX nur Spuren von Ausfällung, St. J_1 wurde nur in VII—IX total geflockt.

Aus diesen Versuchen über die Säureflockung der O- und H-Formen der spezifischen wie unspezifischen Proteus-Stämme geht nun jedenfalls so viel hervor, daß die spezifischen Stämme zum mindesten in der H-Form, die wohl ganz allgemein als die unter natürlichen Verhältnissen charakteristische Lebensform des Bact. vulgare aufgefaßt werden kann, eine auffallende Uebereinstimmung in Flockbarkeit und Flockungsbild aufweisen, was wohl auf gleiche chemische Zusammensetzung wie auf gleichen strukturellen Aufbau der Bakterienzelle schließen läßt. Die-

---

1) **Felix** u. **Mitzenmacher**, Wien. klin. Wochenschr. 1918. S. 988.

2) **Braun** u. **Schaeffer**, Berlin. klin. Wochenschr. 1919. No. 18.

selben Eigenschaften können auch bei den unspezifischen Stämmen vorhanden sein, da es Stämme gibt, deren H-Form in der Säureflockung sich in nichts von der der spezifischen Stämme unterscheidet. Andererseits aber zeigen unspezifische Stämme wiederum so auffällige Unterschiede im Flockungsbild und in der Flockbarkeit, daß man zu der Annahme kommt, daß hier die einzelnen Individuen desselben Stammes weitgehende Differenzen in der chemischen Zusammensetzung oder im Zellaufbau haben müssen, die mehr oder weniger fest beibehalten werden.

Die Säureflockungsversuche mit den O-Formen der spezifischen wie unspezifischen Stämmen deuten dagegen darauf hin, daß hier überhaupt keine einheitlichen Verhältnisse vorliegen. Nur bis zu einem gewissen Grade könnte man davon sprechen, da nach den ersten Versuchen mit den gleichaltrigen O-Formen der spezifischen Stämme die Zurückdrängung der Flockbarkeit auffallend übereinstimmend war. Diese Erscheinungen bleiben aber nicht konstant. Eine Erklärung für dieses wechselnde Verhalten der O-Formen könnte in folgendem gefunden werden: Aus den Untersuchungen von Jötten[1]), Braun und Schaeffer[2]) geht hervor, daß die Karbol-O-Formen stark mit degenerativen Merkmalen belastet sind und sich schon wesentlich morphologisch von den H-Formen unterscheiden (Fehlen der Geißeln, kokkenähnliche Form). Die natürliche O-Form stellt nur eine Dauermodifikation dar, bei der Abänderungen mehr oder weniger konstant geworden sind; denn auch sie kann gelegentlich wieder zum Schwärmen kommen. Da nun die Bakterienzelle keine einheitliche Substanz im chemischen Sinne darstellt, sondern einen Substanzenkomplex, so ist es erklärlich, wenn degenerative Veränderungen in verschiedener Stärke und auch hinsichtlich der Zellstruktur verschieden ausgebildet sind. Dementsprechend wird auch das chemisch-physikalische Verhalten ein ganz wechselndes sein können. Dieses wechselnde Verhalten der Säureflockung findet eine auffallende Parallele im serologischen Verhalten von Karbol-O-Formpassagen, das Braun und Schaeffer beschreiben. Nach ihnen verhalten sich lange über Karbolagar gezüchtete Proteus-Stämme auch agglutinatorisch verschieden, neigen zu Spontanagglutination, oder zeigen sich gegen Immunsera oder Fleckfiebersera oft schwer agglutinabel.

Aus meinen Versuchen geht weiterhin hervor, daß hinsichtlich des chemisch-physikalischen Verhaltens die Fleckfieber-Proteus-Stämme eine einheitliche Gruppe bilden, wenn sich auch über die Ursache der Fleckfieberagglutinabilität nichts Direktes aussagen läßt. Hierzu als Parallele erscheint die Einheitlichkeit in kultureller Hinsicht, die aus den Untersuchungen von z. B. Jötten, Braun und Schaeffer hervorgeht: denn auffallende Abweichungen werden von diesen Stämmen nicht aufgeführt. Wohl aber wird die weitgehende Variabilität der unspezifischen Stämme betont, die sich auch wie spezfische unter Umständen verhalten können (Braun und Schaeffer).

Nach den Versuchen über die Säureflockbarkeit der unspezifischen Stämme scheint mir die Sache so zu liegen, daß bei diesen Proteus-Stämmen schon unter gewöhnlichen Kulturbedingungen, individuell verschieden, Modifikationen auftreten, die sich anders als die H-Form zu den [H·] verhalten. Dafür sprechen die bei H-Kulturen zu beobachtenden isoliert auftretenden Kolonien, wie auch die oft viel dichtere Art des aus dem Kondenswasser aufwachsenden Bewuchses, der bei den spezifischen Stämmen hauchartig-zart war. Aber auch schon ganz junge H-Kulturen zeigten die Abweichungen älterer, so daß man, wie schon erwähnt, die inneren Ursachen in der Bakterienzelle selbst vermuten muß. Der Versuch, aus den Flockungsbildern der getrennten H- und O-Formen durch Kombination ein Bild zu konstruieren, das dem einer gemischten Kultur entsprechen konnte, in der H-Form und Varianten nebeneinander anzunehmen waren, entsprach aber nicht den natürlichen Verhältnissen, wie einige mit einer ganzen Anzahl von Stämmen ausgeführte Versuche zeigten, bei denen gleichzeitig H-, O- und Mischkulturen der Säureflockung unterworfen wurden. Entweder wurde das H-Bild unterdrückt, oder es trat auf, ohne daß im letzten Falle noch unausgefällte Mengen zu sehen waren. Allerdings wußte man bei diesen Versuchen nicht, wie die quantitativen Verhältnisse einer derartigen Mischkultur beschaffen waren, und konnte sie nur je nach der Deutlichkeit des gewachsenen Impfstriches ungefähr abschätzen. Aus diesem Grunde prüfte ich eine künstliche Mischung gleicher Teile von Abschwemmungen einer O- und H-Kultur des X 19, und erhielt auffallenderweise nur das Bild einer beschränkten Flockung der O-Form, ohne daß auch nur andeutungsweise das H-Bild vorhanden gewesen wäre, wie man hätte vermuten sollen. Mischte man dagegen einen unausflockbaren Bakterienstamm — ich benutzte hierzu einen in mehrfacher Prüfung sich als absolut unausflockbar erweisenden Pyocyaneus-Stamm — so trat doch das Flockungsbild der H-Form deutlich auf, obwohl sämtliche Röhrchen eine durch den Pyocyaneus bedingte starke Trübung aufwiesen. Demnach mußte die O-Form die Ausflockung der H-Form in ganz besonderer Weise beeinflussen.

---

[1]) Jötten, Berlin. klin. Wochenschr. 1919. No. 12.
[2]) Braun u. Schaeffer, a. a. O.

Im allgemeinen ergibt sich aus den Säureflockungsversuchen, daß in chemisch-physikalischer Hinsicht prinzipielle Unterschiede zwischen spezifischen und unspezifischen Proteus-Stämmen auch nach Aufspaltung in H- und O-Formen nicht bestehen, sondern daß dieselben nur gradueller Art sind, ein Ergebnis, zu dem auch hinsichtlich des kulturellen Verhaltens Jötten (1), Schaeffer (2), Braun und Schaeffer (3), Wolff (4) kommen, die auch keine durchgreifenden Unterschiede feststellen konnten. Dies scheint ja sogar auch für das serologische Verhalten zum Fleckfieberserum zuzutreffen, da bereits, wenn auch selten, Proteus-Stämme vom Typ X 19 gezüchtet worden sind, die nichts mit der Erkrankung zu tun hatten (letzthin berichtet Wolff über 3 spezifische Stämme unter 116 Proteus-Stämmen; früher sind gleiche Befunde schon von Dienes, Much u. Soucek, Finger und Kollert angegeben).

Als Ursachen für das auffallende Flockungsbild reiner H-Kulturen im Gegensatz zu dem der O-Kulturen könnte man versucht sein, morphologische Eigentümlichkeiten der H-Bakterien anzunehmen, da nach den Untersuchungen verschiedener Autoren (Jötten, Braun und Schaeffer) sich die beiden Proteus-Varianten dadurch unterscheiden.

---

1) Jötten, a. a. O.
2) Schaeffer, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 83. 1919. S. 430.
3) Braun u. Schaeffer, a. a. O.
4) Wolff, Berlin. klin. Wochenschr. 1919. No. 21.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

daß den O-Bakterien, im Gegensatz zu den H-Bakterien, die Geißeln fehlen, sowie daß erstere mehr kokkenähnliche Stäbchen, die letzteren lange Fäden vorstellen; da aber auch unter typischen H-Formen saprophytischer Proteus-Stämme atypisch flockende zu beobachten waren, so müssen nicht nur derartige äußere, sondern auch innere, im Chemismus der Zelle liegende Ursachen anzunehmen sein.

II.

Die Ausflockungsversuche mit den spezifischen und saprophytischen Proteus-Stämmen liefern des weiteren einen Beitrag zur Beurteilung der Stellung der Säureflockungsmethode zur spezifischen Serumagglutination, insofern nämlich, als man auch an ihnen zeigen kann, daß die anfangs vermutete Identität zwischen spezifischer Serumagglutinabilität und Säureflockung nicht allgemein bestehen dürfte, zum mindesten nicht in dem Sinne, daß hier eine Gesetzmäßigkeit vorliegt, sondern daß beide Erscheinungen Ursachen haben, die nur parallel laufen können.

Beniasch[1]) ist zuerst auf Grund seiner Untersuchungen an Typhusstämmen zu dem Schluß gekommen, daß „in dem Prozeß der Säureagglutination die agglutinable Substanz der Bakterien identisch ist mit derjenigen agglutinablen Substanz, die bei der spezifischen Agglutination reagiert“, da in seinen Versuchen „dem spezifischen agglutinierenden Serum gegenüber resistente Stämme auch der Säure gegenüber resistent sind“ und umgekehrt. Dieser Satz wird sich aber nach den Ergebnissen späterer und der bei den Proteus-Stämmen ausgeführten Untersuchungen kaum mit solcher Sicherheit aufrecht erhalten lassen. Die Verhältnisse liegen bei den Proteus-Stämmen verhältnismäßig klar, ohne daß es notwendig wäre, auf die gesamte Literatur über das Verhalten der spezifischen und saprophytischen Proteus-Stämme in serologischer Beziehung einzugehen. Das Fleckfieberserum ist der Prüfstein für das serologische Verhalten der verschiedenen Proteus-Stämme; es besteht also in dieser Beziehung dasselbe Verhältnis wie z. B. zwischen einem Typhusimmunserum und den zu prüfenden Typhusstämmen. Wenn auch das Fleckfieberserum nicht gleich einem Immunserum zusetzen ist, so ist der Effekt, worauf es im wesentlichen ankommt, der gleiche, da der Schwerpunkt nicht im Serum, sondern in der agglutinablen Substanz der Bakterien nach der Auffassung Beniaschs liegt. Nun ergibt sich aber aus den vorher geschilderten Versuchen, daß die unspezifischen Proteus-Stämme, besonders wenn man sie noch in ihre O- und H-Formen aufspaltet, sich gar nicht prinzipiell verschieden von den spezifischen Stämmen verhalten, sondern daß man hier wie dort die gleiche Reaktion auf die Säuregemische findet, wenn auch zuzugeben ist, daß die spezifischen Stämme sich durch eine größere Gleichmäßigkeit auszeichnen.

Aber auch wenn man den etwas gewaltsamen Einwand erheben würde, daß die spezifischen Proteus-Stämme als besonderer Formenkreis aufgefaßt werden müßten, denen die unspezifischen Stämme gar nicht zum Vergleich gegenübergestellt werden dürften, so läßt sich sogar an den spezifischen Stämmen selbst zeigen, daß Säure- und Serumagglutination nicht parallel zu gehen brauchen. Denn die X-Stämme selbst sind in ihrem Verhalten zum Fleckfieberserum einander nicht gleich. X_2-Stämme werden als schwer agglutinabel vom Fleckfieberserum aufgefaßt, X 21 und X S 5 (von Zeiß) als noch leichter agglutinabel als X 19[1]. Wir haben es hier also mit Differenzen innerhalb der spezifischen Gruppe gegenüber dem spezifischen Serum zu tun. Für die Säureflockungsversuche standen mir X 2 und X S 5 zur Verfügung, beide Stämme aber verhielten sich absolut nicht anders als X 19 und die anderen Fleckfieberstämme.

---

[1]) Beniasch, Zeitschr. f. Immunitätsf. Orig. Bd. 12. 1912. S. 268.

Durch eine andere Versuchsanordnung ließ sich des weiteren die Verschiedenheit von Säure- und Serumagglutination zeigen. Durch Versuche von verschiedenen Seiten (Sachs, Csepai u. a.) ist speziell auch vom X 19 bekannt, daß er durch Erwärmen auf 55° (1 Std.) für Serum schlecht, bzw. inagglutinabel wird, während bei höheren Temperaturen die Agglutination wie früher eintritt. Eine auf 55° 1 Std. lang erhitzte X 19-Kultur wurde aber, besonders in der H-Form, durch Säure ebenso leicht und in der charakteristischen Weise ausgeflockt wie eine unerhitzte. Bei Erhitzung auf 65° $^1/_2$ Std. trat dagegen Ausflockung erst von VI an auf und zwar stark verzögert (nach ca. 14 Std.). Bei Erhitzung auf 100° $^1/_2$ Std. waren die Resultate verschieden. Gleich war in allen Fällen die starke zeitliche Verzögerung, in einem Falle daneben Andeutung von Ausflockung erst in V, total von VI ab, in einem 2. Versuche schwache Ausflockung von IV—VI, starke von VII an, in einem 3. Versuch dagegen totale Ausfällung schon von III an, aber in gleichmäßigen, lockeren Flocken, ähnlich einer O-Form, obwohl eine H-Kultur benutzt worden war! Jedenfalls in allen Fällen keine Uebereinstimmung mit der Ausgangskultur.

Auch Eisenberg[2] verzeichnet Differenzen, die sich ihm an seinem reichen Materiale zwischen Serumagglutinabilität und Säureflockung ergeben, und hebt „die verwirrende Mannigfaltigkeit der Resultate“ hervor, die der Einfluß von Hitzewirkungen auf die Säureflockbarkeit verursacht. Es scheinen daher wohl überhaupt Versuche mit erhitzten Bakterien, wenn es sich um höhere Temperaturen handelt, nicht recht geeignet zu sein für die Untersuchung der Beziehungen zwischen Säureflockung und Serumagglutination. Geht man die über die Säureflockung von Bakterien vorhandene Literatur weiterhin durch, so stößt man auch aller Orten auf Angaben, die mit jener Annahme nicht so recht zu vereinbaren sind. Charakteristisch ist, daß fast alle Untersucher, außer Beniasch, wohl zugeben, daß Parallelen vorhanden sind, daß sie aber doch nicht wagen, die Erscheinungen so scharf zu formulieren, wie dieser Autor. Beintker[3] läßt es unentschieden, ob die beiden Ausflockungsweisen gleichgeartet sind; unter seinen an Typhusstämmen angestellten Untersuchungen finden sich unter 15 Stämmen 6 (= 40 Proz.!), die von der Säure nicht geflockt, vom spezifischen Serum dagegen, wenn auch nicht bis zur Titergrenze, so doch noch sehr hoch, agglutiniert werden. Jaffé[4] verzeichnet 4 unter 40 Typhusstämmen als nichtsäureflockbar (= 10 Proz.), Eisenberg[5] 5 Proz. seiner Typhusstämme:

---

[1] Weil u. Felix, Wien. klin. Wochenschr. 1917. No. 48.
[2] Eisenberg, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 83. 1919. S. 472.
[3] Beintker, Klin. Jahrb. Bd. 26. 1912. S. 383.
[4] Jaffé, Arch. f. Hyg. Bd. 76. 1912.
[5] Eisenberg, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 83. 1919. S. 70.

über unausflockbare Stämme berichten auch Sgalitzer[1]), Heimann[2]). Ich selbst fand unter 7 Typhusstämmen der hiesigen Institutssammlung 4 Stämme, die unausflockbar waren. Auch von anderen Bakterien wird dasselbe angegeben. Diese Tatsachen mahnen doch zum mindesten zur Vorsicht. Sgalitzer sagt sehr richtig: „Wollen wir aber dem Wesen der Ausflockung durch Serum oder durch Säure nähertreten, dann dürfen wir uns nicht darauf beschränken, Analogien festzustellen, sondern wir müssen gerade auf Differenzen besonders achten, die bei den erwähnten Phänomenen in Erscheinung treten“. Uebereinstimmend wird die Serumagglutination als die empfindlichere Reaktion angegeben, die Verhältnisse sind wahrscheinlich viel komplizierter, als daß die verhältnismäßig rohe Methode der Säureflockung Antwort auf das Problem der Spezifität, um das es sich ja dreht, geben könnte. Es besteht in dieser Beziehung zwischen Serumagglutination und Säureflockung viel Aehnlichkeit mit dem Verhältnis von Wassermannscher Reaktion und z. B. der Bruckschen Säurefällungsmethode. Auch hier sehen wir weitgehende Parallelität ohne innere Wesensgleichheit, wie verschiedentlich nachgewiesen worden ist.

Eisenberg, der, gestützt auf seine große Erfahrung, ebenfalls „die Frage nach der Identität der flockbaren Substrate bei beiden Vorgängen nicht ohne weiteres bejahen möchte, betont daher, „daß nicht die flockbare Substanz der Bakterien allein das Substrat der Serumagglutination ausmacht, sondern es ist ein Kolloidkomplex: flockbare Substanz + Serumagglutinin, der vom Salz geflockt wird“. Diesen Unterschied zeigt eigentlich der Versuch mit dem X 2-Stamm sehr deutlich, der sich in der Säureflockung wie X 19 verhielt: gleiches Verhalten zur Säure bei differentem Verhalten zum spezifischen Serum, wobei der Stamm X 2 an sich nicht etwa schwer agglutinabel ist, wie Braun und Salomon[3]) zeigten, im Gegensatz zu wirklich schwer, auch durch spezifisches Serum beeinflußbaren Organismen, wie es im allgemeinen die Bakterien der Friedländer-Gruppe sind. Der X 2 besitzt demnach eine „agglutinable“ Substanz, die sich aber zur Säure und Serum ganz verschieden verhält. Auch bei den eben erwähnten Bakterien der Friedländer-Gruppe liegen die Verhältnisse nicht so einfach, wie Beniasch zuerst vermutete; denn Gieszczykiewicz[4]) fand auch in dieser Gruppe nicht-säureflockbare Stämme, die vom Serum beeinflußbar waren. Die Säureflockungsmethode kann daher vielleicht nur bestimmte, sichtbar flockende Substanzen angeben, andere, die wie diese auch Beziehungen zur Serumagglutination haben, flocken entweder (wie das genuine Albumin) im isoelektrischen Punkt nicht aus, oder die Ausfällung ist so fein, daß sie unter der Grenze des optischen Auffassungsvermögens liegt, so daß innerhalb der üblichen Zeit keine Sedimentation zu bemerken ist. Zu dieser Vermutung bin ich dadurch gekommen, daß nach längerem Stehen der Säuregemische (3—4 Tage) in Röhrchen, die keine Ausflockung zeigten (z. B. bei Pyocyaneus, mazerierten Kulturen des X 19 u. a.), eine gegenüber Kontrollen auffällige Sedimentation zu beobachten war, die man rein mechanisch auf eine allmählich eintretende Vergrößerung der Teilchengröße und damit verbundener relativer Ver-

---

[1]) **Sgalitzer**, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 76. 1914. S. 209.

[2]) **Heimann**, Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 16. 1913. S. 127.

[3]) **Braun** u. **Salomon**, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 82. 1918. S. 243.

[4]) a. a. O.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

ringerung des Reibungswiderstandes zurückführen könnte, die die Sedimentation begünstigt, letzten Endes also auch spezifische Ursachen haben könnte.

Daß das durch Säure flockbare Bakteriensubstrat nur indirekt zur Serumagglutination in Beziehung stehen kann, könnte man auch aus dem Umstande annehmen, den auch Grote[1]) andeutet, daß sehr verschiedene Bakterien übereinstimmend von der Säure geflockt werden, wie eine Betrachtung der Ausflockungsergebnisse Beniaschs und vor allem Eisenbergs zeigt. Letzterer gibt von den verschiedensten Bakterienarten einen „Enteritistyp“ an. Daß diese Arten aber nicht die geringste gemeinsame Affinität zu einem Serum haben, das für eine jener Arten spezifisch ist, dürfte wohl ein Argument dafür sein, daß spezifisch serumagglutinable und die säureflockbare Substanz nicht identisch zu sein brauchen. Daß andererseits die spezifische, serumagglutinable Substanz eines Bakteriums identisch mit der säureflockbaren Substanz sein **kann**, muß man nach der Versuchsanordnung von Michaelis und Davidsohn[2]) annehmen. Beide Autoren betonen aber selbst, daß das Rätselhafte der spezifischen Reaktionen durchaus bestehen bleibt, Denn in ihren Versuchen zeigen sie wohl, daß die säureflockbare Substanz auf spezifisches Serum reagiert, eine Umkehrung des Versuchs, daß auch die serumagglutinable Substanz Säureflockung ergeben müsse, braucht aber nicht zuzutreffen. Dies ergibt sich logischerweise aus den Beobachtungen an serumagglutinablen Bakterienstämmen, die durch Säure nicht geflockt werden. Man kann daher auch für eine Lösung des Problems nichts gewinnen, wenn man dem Satze von Beniasch einen allgemeineren Sinn unterlegen würde, indem man sagt, daß dort, wo eine durch Säure flockbare Substanz auftritt, irgendeine serumagglutinable Substanz vorhanden sein müsse, dagegen dort, wo keine säureflockbare Substanz sich zeige, fehlende Serumagglutination zu erwarten sei, da diese letztere Annahme nicht zutrifft. Denn fehlende Agglutinabilität eines Bakteriums gegen ein Serum derselben Bakterienart beweist bekanntlich nicht eine fehlende Agglutinabilität an sich, wie ja z. B. die serologischen Verhältnisse in der Coli-Gruppe, von X 2 zu X 19 und die Versuche von van Loghem[3]) über die Klon- und Populationsera kulturell einheitlicher Bakterienarten zeigen. Andererseits müßte aus rein logischen Gründen für eine völlige Verschiedenheit der serum- und säureagglutinablen Substanz noch der Beweis erbracht werden, daß säureflockbare Bakterien auch einem streng spezifischen (Klon-)Serum gegenüber inagglutinabel wären. Diese theoretische Forderung dürfte aber nach Sachlage der bekannten serologischen Verhältnisse nicht zu erfüllen sein.

Zusammenfassung.

Die Methode der Säureflockung nach Michaelis eignet sich nicht zur Unterscheidung fleckfieberspezifischer und -unspezifischer Stämme der Proteus-Gruppe.

Die H-Formen der X-Stämme zeigen in chemisch-physikalischer

---

[1]) Grote, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 73. 1914. S. 202.

[2]) Michaelis u. Davidsohn, Biochem. Zeitschr. Bd. 47. 1912. S. 59.

[3]) van Loghem, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 83 1919. S. 401.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Hinsicht untereinander große Uebereinstimmung, vor allem im Flockungsbild. Die H-Formen der unspezifischen Stämme weisen dagegen große Verschiedenheiten auf, deren Ursachen im inneren Bau der Zellen begründet sein müssen; sie können mit denen der X-Stämme vollkommen übereinstimmen. Die O-Formen aller Stämme, sowohl aus Karbolagarkulturen wie spontan entstandene O-Formen, zeigen regellos wechselndes Verhalten zu den Säuregemischen, was die minimal flockende [H·] anbetrifft; das Flockungsbild unterscheidet sich von dem der H-Kulturen.

Serumagglutination und Säureflockung können parallel gehen, brauchen aber nicht identisch zu sein. Säureflockbarkeit erlaubt keine Rückschlüsse auf Serumagglutinabilität und umgekehrt. Die Methode der Säureflockung vermag Gleichheit oder Unterschiede verschiedener Stämme derselben Bakterienart in ihrem Verhalten zu chemisch-physikalischen Einflüssen nachzuweisen, ohne daß hieraus ein analoges Verhalten zur Serumagglutination abgeleitet werden könnte.

Nachdruck verboten.

Mitteilungen über die Serodiagnose der Rotzkrankheit.

9. Kommen nicht spezifisch ablenkende Substanzen im Blute von Eseln und Eselbastarden konstant vor?

[Aus der Abteilung für Tierhygiene des Kaiser Wilhelms-Instituts für Landwirtschaft zu Bromberg (Leiter: Dr. W. Pfeiler).]

Von

W. Pfeiler und **Fr. Gräfe,**
wiss.-techn. Gehilfen.

Die Verhältnisse, die für die serologische Feststellung der Rotzkrankheit bei Eseln, Mauleseln, Maultieren und Pferden mit sogenannter nicht spezifischer Hemmung der Komplementablenkung vorliegen, sind eingehend in einer Arbeit von Pfeiler und Weber (1) geschildert; diese Schilderung kann auch heute noch, beim Vorliegen eines nach Millionen von überhaupt untersuchten Tieren zählenden, während des Krieges in den militärischen Blutuntersuchungsstellen bearbeiteten Materials, volle Gültigkeit beanspruchen. Bezüglich des genaueren Inhaltes dieser Ausführungen sei auf die betreffende Arbeit verwiesen.

Zu der gleichen Frage haben auch Schütz und Waldmann (2) mit folgendem Stellung genommen [1]):

„Da im Serum aller von uns untersuchten Esel und Maultiere antikomplementäre Stoffe ermittelt werden konnten, so muß das Vorkommen derselben als ein konstantes angesehen werden. Dabei wies das Serum der Esel einen größeren Gehalt an diesen Stoffen auf als das Serum der Maultiere. Auch war der Gehalt bei allen untersuchten Eseln fast derselbe.

---

[1]) Im Original nicht gesperrt gedruckt.

Betrachten wir diese Tatsache vom phylogenetischen Standpunkte aus, so verdient sie das höchste Interesse. Das Serum des Pferdes enthält, wenn wir von seltenen Ausnahmen absehen, keine antikomplementären Stoffe. die das Komplement des Meerschweinchenserums absorbieren könnten. Das Serum des Esels ist reich an solchen Stoffen, und das Maultier, ein Kreuzungsprodukt von Pferd und Esel, steht in der Mitte. Mithin läßt sich annehmen, daß das Serum der Equiden reich an antikomplementären Stoffen gewesen sein muß und daß diese Eigenschaft bei dem Pferde (Equus caballus) bis auf wenige Ausnahmen später verloren gegangen ist, ferner, daß diese Eigenschaft in den seltenen Ausnahmen, in denen sie sich beim Pferde erhalten hat, als eine atavistische anzusehen ist“ [1]).

Der in diesen Worten liegenden Behauptung ist von Pfeiler (3) schon vor Jahren auf Grund genauer Untersuchungen widersprochen worden. Die nicht spezifisch ablenkenden Substanzen im Blute bei Eseln, Maultieren und Mauleseln brauchen nicht dauerhaft vorhanden zu sein; denn die Substanzen schwinden bei einzelnen Tieren oft während verhältnismäßig kurzer Zeit, auch ist eine Zunahme derselben oft zu erkennen. Auch ist die Menge der nicht spezifisch ablenkenden Substanzen bei einem Teil der Tiere so gering, daß sie ohne Zusatz von Extrakt überhaupt nicht in die Erscheinung tritt. Diese tritt zuerst zutage, wenn Rotzbazillenextrakt hinzugefügt wird. Die Ablenkung wirkt damit auf den ersten Blick spezifisch und solche Tiere müssen rotzverdächtig erscheinen, ohne daß sie es in der Tat sind.

Wir haben nun neuerdings wieder Gelegenheit gehabt, in 2 Beständen an einer ganzen Anzahl von Mauleseln nachzuweisen, daß das von Schütz und Waldmann (2) als konstant angesehene Vorkommen antikomplementärer Substanzen im Blute von Eseln und Eselbastarden besser zu den nicht konstanten Eigenschaften des Blutserums gerechnet wird [2]).

Tabelle

Name	Tierart	Lfd. No.	Agglutination	Komplementablenkung			Kontrolle
				0,2	0,1	0,02	0,2
Dom. B	Maulesel	1	2000	++++	++++	++++	–

---

[1] Zu diesem Teil der Ausführungen über Atavismus werden wir noch besonders Stellung auf Grund von weitergehenden Untersuchungen nehmen.

[2] Anm. während der Korrektur: Untersuchungen über die Ausschaltung der nicht spezifischen ablenkenden Substanzen (kölzemén. az összek. élet-és kbrt. köréb. 1919. No. 1/2) gibt ebenfalls an, daß diese Substanzen im Blute von Eseln und Maultieren immer vorkommen.

Diese Befunde sollen als Beleg für andere, schon vor Jahren erhobene, aber bislang noch nicht veröffentlichte Untersuchungsergebnisse heute mitgeteilt und kommentiert werden.

Am 19. Febr. 1919 wurde die Blutprobe eines Maulesels des Dominiums B., Kreis O., Reg.-Bez. O., dem Institut eingesandt. Die Blutuntersuchung ergab folgendes Resultat.

I[1]).

Konglutination			Kontrolle	K. H.-Reaktion			Kontrolle
0,2	0,1	0,02	0,2	0,2	0,1	0,02	0,2
++++	++++	++++	—	++++	++++	++++	—

Da in den Kontrollröhrchen ohne Zusatz von Rotzbazillenextrakt keine Hemmung der Hämolyse eintrat, wirkte das Ergebnis spezifisch. Nun kommen aber nach Schütz und Waldmann (2) bei Eseln und Eselbastarden konstant antikomplementäre Substanzen im Blutserum vor, die auch ohne Zusatz von Rotzbazillenextrakt ihre Wirkung äußern sollen. Es erhob sich also, wenn man die Ergebnisse der übrigen Untersuchungsmethoden der Beurteilung nicht zugrunde legen wollte, die Frage, ob das durch die Komplementablenkung ermittelte Ergebnis als für Rotz sprechend zu beurteilen war oder nicht. Eine solche Fragestellung erschien nicht ungerechtfertigt, wenn man berücksichtigt, wie die Auffassungen über diese Frage lauten. So haben sich Schütz und Schubert (4) geäußert: „Nun ist die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, daß die Menge der nicht spezifischen Substanzen in einem Pferdeserum ausnahmsweise so reichlich vorkommt, daß schon die geringe Menge von 0,2 ccm desselben genügt, um eine ablenkende Wirkung hervorzurufen. In diesem Falle könnte die im Prüfungsröhrchen zu beobachtende Ablenkung den Irrtum hervorrufen, daß das Pferd rotzkrank ist. Gegen diesen Irrtum schützt aber die Kontrolle des Serums.

Denn in dem Kontrollröhrchen sind 0,2 ccm Pferdeserum mit den Bestandteilen des hämolytischen Systems gemischt. Es fehlt aber der Rotzbazillenextrakt und an Stelle desselben ist Kochsalzlösung hinzugefügt. Und da das Serum schon für sich allein eine ablenkende Wirkung hat, so muß dieselbe auch im Kontrollröhrchen nachzuweisen sein.

Prüfungsröhrchen und Kontrollröhrchen zeigen eine gleich starke Ablenkung, wenn das Pferd rotzfrei ist.

Sollte das Pferd aber rotzkrank sein, so würde in dem Prüfungsröhrchen zu der nicht spezifischen noch die spezifische ablenkende Substanz hinzukommen. In diesem Falle würde die Ablenkung in dem Prüfungsröhrchen stärker sein als in dem Kontrollröhrchen.“

Später haben Schütz und Waldmann (2) den gegenteiligen Standpunkt eingenommen, indem sie im Serum aller Esel und Maultiere antikomplementäre Stoffe vorkommen ließen und deren Gegenwart, natürlich auch für Pferde, anders beurteilten als früher, woraus sich ergeben würde, daß die Entscheidung, ob ein Tier auf Grund des Ergebnisses der Komplementablenkung als rotzverdächtig anzusehen ist, in solchen Fällen überhaupt nicht möglich ist. Der anfangs eingenommene, von Schütz auch noch an anderer Stelle erhärtete Standpunkt (Bericht an den preußischen Herrn Landwirtschaftsminister vom 12. Nov. 1913) ist inzwischen aufgegeben worden. Aber auch der nunmehr vertretene Standpunkt, wonach mittels der Komplementablenkung allein eine Entscheidung nicht gefällt werden könne, ist, wie von dem einen von uns (Pfeiler, 12) bereits an anderer Stelle betont worden ist, nicht zutreffend. Denn es gibt eine einfache Modifikation der Komplementablenkung, die mit nächstem ausführlich veröffentlicht werden soll, die die Beantwortung der Frage, ob ein Tier mit sogenannter nicht spezifischer Ablenkung des Komplements allein durch dieses Verfahren als sicher rotzverdächtig bezeichnet werden kann oder nicht, gestattet.

---

[1] Zeichenerklärung: ++++ = vollst. Hemmung der Ablenkung, Konglutination bzw. K. H.-Reaktion; +++ = fast vollst. H.; ++ = unvollst. H.; + = stark unvollst. H.; ± = schwach unvollst. H.; — = Lösung.

Der vorstehend beschriebene Fall ist jedenfalls einer von denen, wo eine Entscheidung auf Grund des Ergebnisses der Komplementablenkung allein bei Anwendung der alten Technik schon mit hoher Wahrscheinlichkeit, wenn nicht absoluter Sicherheit, den Schluß zuläßt, daß das Tier mit der Rotzkrankheit behaftet war. Nach dem Resultat der übrigen Untersuchungsmethoden mußte das Tier bestimmt als rotzkrank angesehen werden. Dafür sprach auch, da seinerzeit die ansteckende Lymphangitis in Ostdeutschland nicht in gleichem Umfange herrschte, bis zu einem gewissen Grade der uns in kürzester Form übermittelte und hierunter wiedergegebene Vorbericht „Hautgeschwüre an beiden Hinterbeinen und ein einzelnes an der linken Halsseite. Nase und Kehlgang frei“. Das Sektionsergebnis „Veralteter, zum größten Teil abgeheilter Hautrotz, frischer Kehlkopf- und Lungenrotz“ bestätigte, daß der Maulesel rotzkrank war.

In dem 2. und den übrigen Fällen handelt es sich um den Bestand von 8 Mauleseln der Gräfin P. in P., Kreis B., Reg.-Bez. B. Die Blutproben gingen dem Institut neben einigen anderen Proben von Pferden am 25. April 1919 zu. Das Untersuchungsergebnis ist hierunter tabellarisch aufgeführt:

Tabelle II.

Name	Tierart	Lfd. No.	Agglutination	Komplementablenkung			Kontrolle	Konglutination			Kontrolle	K. H.-Reaktion			Kontrolle
				0,2	0,1	0,02	0,2	0,2	0,1	0,02	0,2	0,2	0,1	0,02	0,2
v. P. in P.	Maulesel	1.	400	++	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	„	2.	300	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	„	3.	300	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	„	4.	300	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	„	5.	400	++++	+++	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—
	„	6.	400	++	+	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	„	7.	600	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	„	8.	400	±	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Wir haben bei dem Maulesel No. 1 wie in dem in Tab. I ausgeführten Falle ein Beispiel für das vollständige Fehlen an sich nicht spezifisch ablenkender Stoffe bei Untersuchung einer Serummenge von 0,2 ccm; denn an dem Serum des Maulesels, der nach dem Ergebnis der Blutuntersuchung mit anderen Methoden unverdächtig und bei dem auch sonst nach Lage der Sache im Bestande das Herrschen der Rotzkrankheit ausgeschlossen erschien — der Kreistierarzt betonte im Begleitbericht „Ansteckungsgefahr liegt nicht vor, Blutentnahme erfolgt auf Grund der allgemeinen Verfügung des Landwirtschaftsministeriums vom 12. Febr. 1919, J.-No. I. A. IIIg 6650“: Blutuntersuchungen sind nicht stets auf die ansteckungsverdächtigen Tiere zu beschränken, sondern überall da, wo eine Verbreitung des Rotzes zu befürchten ist, je nach Lage des Falles auf alle Pferde verseuchter Ortschaften und der Nachbarorte auszudehnen), waren ohne Zusatz von Rotzbazillenextrakt hemmende Wirkungen nicht festzustellen. Dagegen trat eine Ablenkung des Komplements ein, wenn Rotzbazillenextrakt zugefügt wurde. Es handelte sich aber um eine scheinbar spezifische Ablenkung des Komplements, die auch zu beobachten ist, wenn die Spezifitätsprobe gemacht wird, d. h. nach dem Vorschlage von Pfeiler (3) andere Extrakte (Typhus-, Ferkeltyphus) in das Prüfungsröhrchen gebracht werden.

Verglichen mit dem in der Tab. I besprochenen Fall würde man, wenn man sich auf den von Schütz früher eingenommenen Standpunkt stellen wollte, diesen Maulesel nach dem Ergebnis der Komplementablenkung allein gleichfalls als rotzkrank haben ansehen müssen, wenn nicht Erfahrungsgrundsätze gegen die Richtigkeit dieser Deutung gesprochen hätten, die hier nicht näher auseinandergesetzt werden sollen, deren Zutreffen sich aber aus den Ergebnissen der übrigen Untersuchungsmethoden ergab. Denn sowohl nach der Konglutination, wie auch K. H.-Reaktion erschien der Maulesel gesund.

Das Serum des Maulesels 2 ist ein Beispiel für das völlige Fehlen an sich schon ablenkender Substanzen, also wieder ein Beweis gegen die Behauptung, die eingangs angeführt worden ist. Es handelt sich hier mithin um ein Tier, bei dem man die Feststellung, ob es auf Grund der Blutuntersuchung der Rotzkrankheit verdächtig ist oder nicht, ohne die anderen Hilfsmethoden oder Modifikationen nicht mit Sicherheit machen kann.

Welche Schwankungen in der Menge der antikomplementären Stoffe im Blut von Mauleseln vorkommen können, zeigen die bei den übrigen Tieren erzielten Ergebnisse. In dem Serum der Maulesel 3, 4 und 7 sind die anscheinend spezifisch ablenkenden Substanzen in so geringer Menge vorhanden, daß sie in den Versuchsröhrchen bei 0,2 ccm Serumzusatz nur noch eine unvollständige Ablenkung erzwingen. Diese Hemmung tritt aber nur bei Zusatz von Rotzbazillen- (bzw. anderem) Extrakt in schwach unvollständiger Form ein, dagegen bleibt sie in dem Kontrollröhrchen aus; die Maulesel konnten mithin, der früheren Schützschen Auffassung entsprechend, wie in dem in Tab. I aufgeführten Falle als rotzverdächtig angesehen werden. Dagegen sprechen aber die Ergebnisse der Konglutination und K. H.-Reaktion.

In größerer Menge sind antikomplementäre Stoffe im Blutserum der Maulesel 6 und 8 vorhanden, bei denen die Ablenkung noch bei 0,02 bzw. 0,1 wenn auch schwach unvollständig eintrat. Aber auch bei diesen sind sie wie bei den vorigen Seren nicht in so großen Mengen vorhanden, daß ihre Gegenwart in den Kontrollröhrchen zutage tritt. Auch diese Maulesel würden, wenn man allein nach dem Ergebnis der Ablenkungsmethode, unter Zugrundelegung der alten Schützschen Meinung, urteilen wollte, als rotzverdächtig angesehen werden müssen. Im übrigen gilt das für die Maultiere 3, 4 und 7 Gesagte auch für diese Tiere.

Nur das Serum des Maulesels No. 5 zeigte antikomplementäre Eigenschaften auch in der Kontrolle. Hier trat sowohl in dem Versuchsröhrchen bis 0,02 eine stark unvollständige als auch in dem Kontrollröhrchen bei 0,2 eine schwach unvollständige, aber noch deutliche Hemmung auf. Besonders interessant dürfte in dieser Beziehung ein Vergleich der Ergebnisse bei Untersuchung des Blutserums dieses Tieres und des in der Tab. 1 aufgeführten Maulesels sein: Bei dem letzteren, der mit Rotz behaftet war, das völlige Fehlen ablenkender Stoffe in der Kontrolle, dagegen eine vollständige Ablenkung im Prüfungsröhrchen mit Extraktzusatz noch bei 0,02, Verhältnisse, die von vorneherein dazu führen mußten, das Tier für rotzkrank oder, wie die amtliche Fassung lautet, rotzverdächtig zu halten.

Es sind hiermit ausreichend Beispiele für das Fehlen resp. Vorhandensein antikomplementärer Substanzen im Serum von Mauleseln in größerer oder kleinerer Menge gegeben, die beweisen, daß 1) das Vorkommen nicht als ein konstantes angesehen werden kann, und daß 2) auch scheinbar spezifische Ablenkungen nicht für das Vorliegen der Rotzkrankheit zu sprechen brauchen. Der von Schütz und Schubert (4) vertretene Standpunkt, daß, wenn ein Pferd (in dieser Arbeit wird nur von Pferden gesprochen, da das nicht-spezifische Ablenkungsverhältnis bei Eseln und Eselbastarden nicht berücksichtigt worden ist) rotzkrank ist, in dem Prüfungsröhrchen zu der nicht-spezifischen noch die spezifisch ablenkende Substanz hinzukommt und in dem Falle die Ablenkung in dem Prüfungsröhrchen stärker als in dem Kontrollröhrchen sein würde, erweist sich somit als nicht zutreffend.

Endlich ergibt sich, daß die Schütz-Waldmannschen (2) Schlußfolgerungen über die Bedeutung der antikomplementären Substanzen im Blute von Eselbastarden in der gewählten phylogenetischen Betrachtung unter Zugrundelegung von atavistischen Einflüssen unzutreffend sind. Gibt es doch sogar Esel, in deren Blut an sich antikomplementär wirkende Stoffe nicht vorhanden sind, wie die Prüfung eines für die Beurteilung der Frage ausreichend großen Materials von Eselseren erkennen läßt.

Die geschilderten Fälle dürften zur Genüge zeigen, daß die seinerzeit von Pfeiler aufgestellten (einem an den preußischen Herrn Landwirtschaftsminister erstatteten Bericht entstammenden) Gesichtspunkte, die in der Arbeit von Pfeiler und Weber (1) schon wiederholt sind, schon zur Zeit, als die Diskussion dieser Frage auftauchte, die Lage richtig wiedergegeben haben. Sie seien zur Prüfung ihrer Richtigkeit an Hand des heute auch an anderen Stellen vorliegenden großen Materials hierunter noch einmal mitgeteilt:

„Für die Praxis der Blutuntersuchungen zur Diagnose der Rotzkrankheit ergibt sich aus diesen Feststellungen, daß, wenn die Ablenkungsmethode für diagnostische Zwecke an Eselserum ausgeführt wird, unter Umständen nicht zu bewertende Ergebnisse gezeitigt werden.

Auf die Möglichkeit der Feststellung der Rotzkrankheit durch die Konglutinationsmethode bei Maultieren habe ich unter anderem auch in dem Bericht vom 19. Juli 1913 hingewiesen: „Das Serum der Maultierstute hemmte in einer Menge von 0,2—0,05 ccm bei Zusatz von Rotzbazillenextrakt die Hämolyse vollständig; in den Kontrollröhrchen war bei Anwendung von 0,2—0,05 ccm Serum nur eine geringe Hemmung zu beobachten.“ Das Tier war nach dem Ergebnis der Konglutinationsmethode als rotzverdächtig bezeichnet worden. Bei der Zerlegung wurde Rotz der Lungen und der Milz ermittelt.

In den (in der damaligen Veröffentlichung) angeführten Arbeiten von Schütz und Schubert (4) bzw. Miessner und Trapp (5) sind die Wege angedeutet, auf denen die Unterscheidung gesunder von rotzkranken Tieren möglich sein soll, wenn das Serum antikomplementäre Eigenschaften zeigt. Auf Grund unserer praktischen Erfahrungen bei der serologischen Feststellung der Rotzkrankheit sowie besonderer wissenschaftlicher Versuche müssen wir uns jedoch auf den Standpunkt stellen, daß die in den beiden Arbeiten geäußerten Meinungen bzw. Vorschläge nicht das Richtige treffen und daß es in der dort angegebenen Weise nicht möglich ist, die Diagnose der Rotzkrankheit bei Tieren mit nicht-spezifisch hemmenden Substanzen zu stellen.

Der von Schütz und Schubert (4) vertretenen, vorn wörtlich mitgeteilten Auffassung müssen wir folgendes entgegenhalten: Vorausgesetzt, daß die von ihnen angenommene stärkere Hemmung im Prüfungsröhrchen überhaupt einträte, so könnte dies nur zutreffen, wenn es sich um frisch infizierte Pferde handeln würde (Zusatz anläßlich der jetzigen Veröffentlichung: Dieser Fall liegt, vom serologischen Standpunkte — Metastasenbildung! — bei dem in der Tab. I aufgeführten Maulesel bzw. der in dem Bericht vom Juli 1913 erwähnten Maultierstute tatsächlich vor).

Eine einfache Ueberlegung wird dies beweisen: Pferde, die frisch infiziert sind, haben (jetziger Zusatz: in der Regel) hohe Ablenkungswerte. Diese sinken von einem bestimmten Zeitpunkte an um so mehr, je längere Zeit seit der Infektion verstrichen ist. Dies ist eine anerkannte Tatsache. So ist es verständlich, daß wir bei rotzkranken Pferden Ablenkungswerte von 0,2 und 0,2 unvollständig finden. Pferde, die mit der chronischen Form der Rotzkrankheit (im serologischen Sinne) behaftet sind, werden nun, wenn gleichzeitig in ihrem Blute nicht spezifisch ablenkende Substanzen in größerer Menge vorhanden sind, niemals auf Grund der Ablenkungsmethode als rotzig erkannt werden können; denn die Anwesenheit größerer Mengen nichtspezifisch ablenkender Substanzen, wie wir sie bei Eseln[1])

---

[1] (Diese und die folgenden Bemerkungen entstammen gleichfalls der damaligen Veröffentlichung.) Die Gegenwart antikomplementärer Stoffe im Serum von Pferden und Eseln bzw. Mauleseln und Maultieren gehört anscheinend zu den konstanten Eigenschaften der mit dieser Einrichtung behafteten Individuen. In der Regel findet man sie in einem Zeitraum von mehreren Wochen in ungefähr der gleichen Menge. Bestimmte Beobachtungen lassen uns aber den Standpunkt vertreten, daß die besagte Einrichtung besser zu den nicht-konstanten Eigenschaften des Blut-

(auch Maultieren und Mauleseln) fast regelmäßig vorfinden, verdeckt die Gegenwart der außerdem vorhandenen geringen spezifisch ablenkenden. In solchen Fällen ist es also auch auf dem Wege der Titration nicht möglich, die Frage zu entscheiden, ob das betreffende Tier mit der Rotzkrankheit behaftet ist oder nicht. Man würde solche Tiere also, da man in beiden Röhrchen eine gleich starke Hemmung der Hämolyse erwarten müßte, als gesund ansehen, während sie rotzkrank sind. In Wirklichkeit liegt das Verhältnis aber, was weiter unten gezeigt werden soll, anders.

Eine Trennung der spezifischen von der nicht-spezifischen Substanz auf die von Schütz und Schubert angegebene Weise wird sich höchstens in den Fällen ermöglichen lassen, in denen die Menge der nicht-spezifischen Substanz so gering ist, daß es nur zu einer unvollständigen Hemmung der Hämolyse kommt. Wenn ein solches Pferd an Rotz erkrankt, dann wird, da nun spezifische Substanzen gebildet werden, in dem mit Extrakt angesetzten Röhrchen eine wesentlich stärkere Hemmung festzustellen sein, als in dem entsprechenden Kontrollröhrchen. Aber auch für diesen Fall wird man auf das oben angegebene Verhältnis achten müssen. Sind nämlich die spezifischen Körper bei längerem Bestehen der Rotzkrankheit wieder im Schwinden begriffen, dann wird der Hemmungsunterschied in beiden Röhrchen nur gering sein, und da dieser auch auf andere Weise entstanden sein kann, wird sich in solchen Fällen nicht entscheiden lassen, ob das betreffende Pferd mit der Rotzkrankheit behaftet ist oder nicht. Denn nach den Untersuchungen Sormanis (6), deren Richtigkeit wir bestätigen müssen, bindet sowohl das Serum und der Extrakt als auch die Vereinigung beider Komplement; es ist daher verständlich, daß in dem mit Extrakt angesetzten Röhrchen eine stärkere Hemmung in Erscheinung treten muß. Mithin könnten, wenn man den von Schütz und Schubert (4) vertretenen Standpunkt als richtig ansehen wollte, auch gesunde Pferde mit geringen Mengen antikomplementärer Stoffe im Blutserum als rotzverdächtig angesehen werden [1]).

Ist es nun möglich, auf dem von Miessner und Trapp (5) angegebenen Wege gesunde Pferde mit nicht spezifisch hemmenden Substanzen im Blutserum von rotzkranken mittels der Komplementablenkung zu unterscheiden? Zunächst müssen wir eine Verallgemeinerung auf Grund des einen von Miessner und Trapp (5) mitgeteilten Befundes ablehnen. Außerdem haben aber Pfeiler und Neumann (7) die Frage am Serum von Eseln in weitgehender Weise nachgeprüft. Diesen ist es nicht gelungen, die spezifische von der nicht spezifisch hemmenden Substanz zu trennen, denn bei Temperaturen, wo (Zusatz anläßlich dieser Veröffentlichung: bei einzelnen Seren) die Wirkung der nicht spezifisch hemmenden Substanz ausgeschaltet wird, gehen die spezifisch ablenkenden schon zugrunde. Eine Bestätigung

---

serums zu rechnen ist. Wir sind im Besitze eines Institutspferdes, an dessen Blutserum früher nicht-spezifische, an sich schon ablenkende Substanzen infolge hochgradiger Immunisierung nachzuweisen waren, dessen Serum das Komplement später weder spezifisch noch unspezifisch ablenkte. Aehnliche Beobachtungen haben wir am Blute von Mauleseln, wie in dieser Arbeit gezeigt werden wird, gemacht.

[1]) Auch hierfür können wir den Beleg in dem Verhalten eines anderen Institutspferdes erbringen.

dieser Befunde ist durch Pfeiler und Käthe Lossow erbracht worden“ [1]).

Literatur.

1) Pfeiler u. Weber, Die serologische Feststellung der Rotzkrankheit bei Eseln, Mauleseln, Maultieren sowie Pferden mit sogen. nicht-spezifischer Hemmung der Komplementablenkung. (Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haust. Bd. 16. 1915. S. 311/323.)

2) Schütz u. Waldmann, Der serologische Nachweis der Rotzkrankheit bei Eseln und Maultieren. (Arch. f. wiss. u. prakt. Tierheilk. Jahrg. 40. 1914. S. 503.)

3) Pfeiler, Mitteilungen über die Serodiagnose der Rotzkrankheit. 4. Zur Unterscheidung scheinbar spezifischer von nicht-spezifischen Ablenkungen. (Berlin. Tierärztliche Wochenschr. 1916. S. 169/172.)

4) Schütz u. Schubert, Die Ermittelung der Rotzkrankheit mit Hilfe der Komplementablenkungsmethode. (Arch. f. wiss. u. prakt. Tierheilk. Jahrg. 35. 1909. S. 44.)

5) Miessner u. Trapp, Die Komplementbindung beim Rotz und ihre Beziehungen zur Syphilisreaktion. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 52. 1909. S. 115.)

6) Sormani, Quantitative Komplementbindungsreaktion (insbesondere Reaktion von Wassermann) mit voraus berechneten Komplementquanta. Genaue Technik für kleinere Quantitäten. (Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Orig. Bd. 11. 1911. S. 243.)

7) Pfeiler u. Neumann, unveröffentlicht.

8) Marcis, Arpád, Ueber nicht-spezifische komplementbindende Substanzen im Pferdeblut. (Berlin. Tierärztl. Wochenschr. Jahrg. 34. 1918. S. 181/183.)

9) Rudolf, Johann, Beitrag zur Komplementablenkung beim Rotz. (Berlin. Tierärztliche Wochenschr. Jahrg. 34. 1918. S. 371/372.)

10) Pfeiler, Mitteilungen über die Serodiagnose der Rotzkrankkeit. Einleitung. (Berlin. Tierärztl. Wochenschr. 1914. S. 741.)

11) — u. Scheffler, Mitteilungen über die Serodiagnose der Rotzkrankheit. I. Zur Unterscheidung malleinisierter von rotzkranken Pferden mittels der Blutuntersuchung. (Ebenda. 1914. S. 789.).

12) — — Mitteilungen über die Serodiagnose der Rotzkrankheit. 2. Die Technik der K.H.-Reaktion zur Feststellung der Rotzkrankheit bei den Equiden. (Ebenda. 1915. S. 121.)

13) — Mitteilungen über die Serodiagnose der Rotzkrankheit. 3. Ueber die Verwendung polyvalenter Extrakte bei serologischen Untersuchungen vornehmlich für Ablenkungszwecke. (Ebenda. 1915. S. 397.)

14) — Mitteilungen über die Serodiagnose der Rotzkrankheit. 5. Eine Entgegnung auf die Ausführungen von Schütz „Zur Serodiagnose der Rotzkrankheit“ in No. 41 des Jahrganges 1915 der B. T. W. (Ebenda. 1916. S. 301.)

15) — Mitteilungen über die Serodiagnose der Rotzkrankheit. 6. Ueber die Ursachen nicht-spezifischer Hemmungen bei der Ablenkung sowie nicht-spezifische Reaktionen überhaupt. (Ebenda. 1917. No. 28/29.)

16) — u. Bromberger, Mitteilungen über die Serodiagnose der Rotzkrankheit. 7. Kritisches zur Serodiagnose der Rotzkrankheit mittels der Agglutinations- und Ablenkungsmethode. (Ebenda. 1917. No. 44/50.)

17) — Mitteilungen über die Serodiagnose der Rotzkrankheit. 8. Erscheint die Anwendung der Agglutinationsmethode für die Diagnose der Rotzkrankheit notwendig? (Ebenda. Jahrg. 34. 1918. S. 451/453.)

---

1) Die Untersuchungen sind nicht veröffentlicht worden. Zusatz zu der vorliegenden Veröffentlichung: Unter den gleichen Gesichtspunkten müssen die Arbeiten der neueren Zeit, wie sie von Marcis (8), Rudolf (9) veröffentlicht worden sind, beurteilt werden, d. h. die von ihnen behauptete Möglichkeit der Unterscheidung spezifischer von nicht spezifisch ablenkenden Substanzen ist nicht generell möglich.

Nachdruck verboten.

Beitrag zur Kenntnis der Geflügelpocken, insbesondere mit Bezug auf ihre Verwandtschaft mit der Vogeldiphtherie, der Stomatitis pustulosa contagiosa equi und der Vakzine[1].

[Aus dem Institut für parasitäre und Infektionskrankheiten der Tierärztlichen Hochschule zu Utrecht (Holland).]

Von Dr. **T. van Heelsbergen,**
Konservator des oben genannten Instituts.

Einleitung.

In der letzten Zeit ist man, besonders in der deutschen Literatur, geneigt, Vogelpocken und Vogeldiphtherie als identische Krankheiten anzusehen. [Vgl. Hutyra und Marek, Spezielle Pathologie und Therapie der Haustiere (1) und S. v. Prowazek, Handbuch der pathogenen Protozoen (2).] Diese Auffassung basiert vor allem auf Untersuchungen von Carnwath (3), Uhlenhuth (4), Manteufel (5), v. Ratz (6) und von Betegh (7). Es schien mir nun ersprießlich, einmal nachzuprüfen, ob die Forschungen der genannten Autoren auch in der Tat zu der erwähnten Schlußfolgerung berechtigen. Ich stellte deshalb eine Untersuchung an hinsichtlich der Eigenschaften des Geflügelpockenvirus und der Verwandtschaft, die möglicherweise zwischen diesem letzteren und der Vakzine und dem der Stomatitis pustulosa contagiosa equi bestehen möchte.

Kritische Betrachtungen über die Experimente Carnwaths, Uhlenhuths, Manteufels und anderer.

Um mit Sicherheit entscheiden zu können, ob bei diphtheritischen Mundaffektionen das Pockenvirus im Spiele ist, empfehlen Carnwath, Uhlenhuth und Manteufel (4—5) Versuchshühner auf dem Kamm mit Mundmembranen zu impfen. Wenn das Pockenvirus dem Prozeß im Munde zugrunde liegt, sollen sich nach ihrer Ansicht bei den geimpften Versuchshühnern auf dem Kamm Pocken entwickeln, was jedoch keineswegs der Fall zu sein braucht.

Es kann nämlich der Fall eintreten, daß man es im Munde mit Pockenvirus zu tun hat, ohne daß sich bei der Kammimpfung Pocken entwickeln, wie deutlich folgender Versuch beweist:

Am 18. Dez. 1918 wurden 5 Hühner intravenös und auf dem Kamme mit diphtheritischen Mundmembranen infiziert.

Bei 4 Versuchshühnern traten niemals Pocken auf. Das 5. Exemplar zeigte aber etwa 9 Tage nach der Impfung ein sehr kleines Wärzchen auf dem Kamm.

Wegen der geringen Größe (der eines Stecknadelkopfes) wurde nicht weiter darauf geachtet. Eine Woche danach lenkte aber ein 2. Wärzchen die Aufmerksamkeit auf sich. Das Knötchen wurde mit ein wenig physiol. Kochsalzlösung fein gerieben und aufs neue auf den Kamm eines Versuchshuhnes geimpft. Nach 5 Tagen kam bei diesem letzteren Huhn ein sehr schöner Pockenausschlag zum Vorschein. Im weiteren Verlaufe zeigten sich auch bei diesem Huhn auf der Mundschleimhaut typische diphtheritische Membranen.

Hiermit ist bewiesen, daß das Pockenvirus in einigen Fällen derartig verändert ist — mit Bezug auf die Haut ist es abgeschwächt, aber sehr wohl virulent im allgemeinen, es führt z. B. zu letalem Verlauf — daß es nicht mehr imstande ist, bei natürlicher Infektion Pocken auf der Haut zu verursachen[2].

---

[1] Die ausführliche holländische Publikation wurde veröffentlicht in Tijdschr. v. vergelijkende Geneesk. enz. D. III. Afl. 3.

[2] Bordet und Fally behaupten, daß sie mit ihrem Micrococcus stets Diph-

Mit einem derartig veränderten Pockenvirus kann man aber Immunität gegenüber dem nicht veränderten, Pocken erzeugenden Agens bewirken. Es zeigte sich, daß die 5 genannten Versuchshühner mindestens 1 Monat danach vollkommen immun waren gegen eine energische Kamminfektion, der 3 Kontrollhühner erlagen. Durch diesen Versuch wird der Zusammenhang, der zwischen Geflügeldiphtherie und Geflügelpocken besteht, aufs deutlichste nachgewiesen.

Um zu entscheiden, ob man es bei diphtheritischen Mundinfektionen mit Pockenvirus zu tun hat, führt also die von Carnwath-Uhlenhuth und Manteufel angegebene Kammimpfung nicht immer zu einem Resultat.

In zweifelhaften Fällen möchte ich empfehlen, zu untersuchen, ob es möglich ist, durch Einspritzung diphtheritischer Membranen bei Versuchshühnern Immunität zu erzeugen gegen Geflügelpockenvirus.

Gelingt dieses, so hatte man es mit verändertem Geflügelpockenvirus zu tun. Jedoch stößt man auch bei dieser Arbeitsmethode auf Schwierigkeiten. Es kommt nämlich mehrfach vor, daß man zwar tatsächlich einen gewissen Grad von Immunität erzielt, diese jedoch nicht imstande ist, gegen eine kräftige Geflügelpockeninfektion hinreichend zu schützen. In einem solchen Falle tritt bei dem schwach immunisierten Tiere eine sogenannte Abortivreaktion (Burnet, 13) ein, welche in der Bildung von Pocken besteht, die aber nach einigen Tagen vertrocknen und abfallen. Das Tier bleibt dabei vollkommen gesund. Bei den nicht vorbehandelten Kontrollhühnern sehen wir die Krankheit in all ihrer Kraft auftreten und zuweilen zum Tode führen. In einem derartigen Falle erfährt man also trotzdem, ob wir es bei der Mundinfektion mit Pockenvirus zu tun hatten.

Auch spontan kommt es, wie oben bereits angegeben, sehr oft vor, daß das Pockenvirus derartig verändert ist, daß fast ausschließlich Mund- und Organaffektionen beobachtet werden. Bei ganz genauer Untersuchung des ganzen Hühnervolkes gelingt es aber oftmals, daß man doch ein paar Hühner antrifft, welche auf dem Kamm Pocken zeigen. Diese sind dann ihrer Anzahl nach meistens gering und klein.

In derartigen Fällen behaupten die Besitzer mit der größten Entschiedenheit, daß Pocken bei ihren Tieren nicht vorkommen. In den meisten Fällen ist man wohl gezwungen, sich auf diese Behauptung zu verlassen, besonders dann, wenn die Hühner aus weit entfernten Orten zugeschickt werden. Wenn man ein derartiges Material zu untersuchen beginnt, ist es natürlich nicht zu verwundern, wenn nach Kammimpfung Pocken entstehen.

Bevor man demnach beginnt, mit dem Material Versuche anzustellen, muß man selbst das ganze Hühnervolk, aus dem das kranke Tier herkommt, auf das Vorkommen von Pocken untersucht haben. Wenn man dieses nicht tut, sondern sich auf die Behauptungen des Besitzers oder eines Sachverständigen verläßt, der nicht besonders bei der Sache in-

---

therie hervorrufen könnten, jedoch keine Pocken. Auf Grund dieser Tatsache sehen sie diese zwei Krankheiten nicht als identisch an.

Da wir nun aber sehen, daß man mit den diphtheritischen Mundmembranen auch nur selten Haut- oder Kammausschläge erzeugen kann, so liegt es auf der Hand, daß man derartiges noch weniger von dem aus diesen Membranen stammenden, künstlich gezüchteten Virus wird erwarten können. Die Dualität der Diphtherie und der Geflügelpocken folgt daraus absolut nicht. Es ist sehr wohl möglich, daß der Mikroorganismus von Bordet und Fally gleichfalls die Ursache der Geflügelpocken ist, jedoch eine mit Bezug auf die Haut mitigierte Form darstellt.

teressiert ist, dann hat man sehr große Aussicht, seine Versuche mit diphtheritischen Membranen anzustellen, die von Hause aus durch das veränderte Pockenvirus verursacht werden. Durch seine Versuche will man beweisen, daß Diphtherie dasselbe ist wie Geflügelpocken, während schon Geflügelpocken in dem Volk auftraten.

Gerade hinsichtlich dieses Kardinalpunktes stehen die Untersuchungen von Carnwath, Uhlenhuth-Manteufel-Schmidt und v. Betegh auf sehr schwachen Füßen. Uhlenhuth und Manteufel geben sogar zu, daß sie bei einem ihrer Versuche von einem Material ausgegangen sind, bei dem neben den diphtheritischen Membranen im Munde bei einigen Exemplaren auch einige kleine Pocken auf dem Kamm gefunden wurden. Derartige Versuche besagen also wenig hinsichtlich der Identität beider Krankheiten. Die Versuche dieser Forscher sind aber in anderer Hinsicht als höchst bedeutungsvoll anzusehen. Es besteht zwar noch immer die Möglichkeit, daß neben der Geflügelpockendiphtherie eine Diphtherie mit einem eigenen spezifischen Agens vorkommt, aber es läßt sich daraus der Schluß ziehen, daß die diphtheritischen Membranen auf Mund- und Augenschleimhaut in sehr vielen Fällen durch das Geflügelpockenvirus verursacht werden.

Man hat daraus ersehen, daß die Geflügelpocken sich allein und ausschließlich als eine Schleimhautkrankheit offenbaren können.

Das vielfältige Vorkommen dieser Krankheitsform in verschiedenen Ländern (Deutschland: Carnwath, Uhlenhuth, Manteufel, Schmidt; Oesterreich: von Rátz, v. Betegh; Holland: eigene Untersuchungen [1]) macht einen derartigen Eindruck, daß man anfangen könnte, an der Existenz einer echten Geflügeldiphtherie mit einem eigenen spezifischen Virus zu zweifeln.

Solange aber der wissenschaftliche Beweis dafür nicht erbracht ist, dürfen wir die Existenz einer spezifischen Geflügeldiphtherie nicht leugnen und müssen festhalten an den interessanten Mitteilungen Ferrés (28), Rappins (27), Arloings (27) und anderer, die für die echte Geflügeldiphtherie den Klebs-Loefflerschen Bazillus verantwortlich machen, und vor allem an den Untersuchungen von van Bordet und Fally (24), die einen Micrococcus als Ursache annehmen.

Die Variabilität der Geflügelpocken.

Jeder, der längere Zeit mit dem Geflügelpockenvirus arbeitet, ist sicherlich vor allem erstaunt über die ungeheure Veränderlichkeit dieses Ansteckungsstoffes. Die Erfahrungen, welche ich in dieser Beziehung bei meinen Untersuchungen gemach habe, sprechen für sich selbst.

Bei den spontan kranken Hühnern, die mein Pockenvirus lieferten, wurden keine deutlichen sogenannten Pocken (Epitheliome) wahrgenommen. Wenn hier in der Folge beim Vogel von Pocken gesprochen wird, so wird darunter nicht die typische Pockenform verstanden, wie sie unter anderem bei Säugetieren wahrgenommen wird.

Der Kamm und weiterhin beinahe der ganze Kopf der meisten dieser Hühner, von denen ich ausging, waren mit nassen, klebrigen, gelben Krusten bedeckt, wobei auch die Schleimhaut der Mundhöhle in der Mehrzahl der Fälle in den Prozeß hineinbezogen war.

Bei den ersten Impfungen mit diesem Material — sei es intravenös oder auf dem Kamm — entstanden bei den Versuchshühnern für sich abgesonderte, gut entwickelte Pockeneruptionen, die vom Kamme aus auf den Hals und weiterhin auf die Flügel übergingen. Bei intravenöser Impfung entstanden gleichzeitig gut entwickelte Membranen auf der Mundschleimhaut. Bei der Kammimpfung traten diese letzteren ein einziges Mal auf.

---

[1] Es ist mir 3mal gelungen, durch Einreibung des Kammes mit diphtheritischen Mundmembranen — in dem Hühnervolke kamen keine Pocken vor — bei Versuchshühnern Pocken zu erzeugen.

Nach etwa 3 Monaten war das Virus infolge wiederholter Hühnerpassagen schon derartig verändert, daß nach Impfung fast niemals mehr eine typische Pockenbildung stattfand. Die Eruptionen, die nach Kammimpfung auftraten, bestanden aus blutigen Krusten, die niemals mehr auf Hals oder Flügel übergingen. Darauf veränderte sich das Aussehen der Eruptionen nochmals, und die Krusten wurden anstatt hämorrhagisch mehr serös. Die Exsudation wurde scheinbar durch das Virus stark angeregt. Ein Uebergreifen des Prozesses auf Hals oder Flügel fand nicht mehr statt. Während dieser Periode war das Virus außerordentlich virulent und veranlaßte sehr oft den Tod des Versuchstieres. Dann kam eine Zeit, in der das Virus bei einigen Versuchshühnern, anstatt der Krusten, eine Bildung von Bläschen auf dem Kamm veranlaßte. Nun treten bei den Versuchshühnern die stark feuchten Krusten mehr hervor, und das Virus nähert sich wieder mehr seiner ursprünglichen Form (vgl. das Obenstehende). Pocken auf Hals oder Flügeln wurden später niemals mehr beobachtet. Wie schon erwähnt, war im November—Dezember 1914 die Virulenz des Virus stark gestiegen.

Die Mortalität hatte stark zugenommen und die Dauer des Leidens, die zu Beginn ungefähr $1^1/_2$—2 Monate betrug, wurde auf 2—3 Wochen reduziert. Dieses war vielleicht der Grund dafür, daß der Krankheitsprozeß nicht mehr imstande war, sich vom Kamm aus auf Hals und Flügel auszudehnen. Danach hat aber die Pathogenität abgenommen, und bis auf den heutigen Tag veranlaßt das Virus selten mehr den Tod des Versuchstieres. Was die Inkubationszeit betrifft, so kann ich die Beobachtungen von Marx und Sticker (20) vollkommen bestätigen. Diese Autoren sahen, wie sich bei wiederholter Hühnerpassage die Inkubationszeit verkürzte. Bei meinen Versuchen habe ich das nämliche feststellen können. Während zu Beginn das genannte Stadium ungefähr 5—6 Tage betrug, war es nach etwa 3 Monaten auf 2—3 Tage reduziert. Bei meinen Hühnerpassagen wurde meistens das Virus durch Kammimpfung gewonnen. Es liegen hier also ungefähr die gleichen Verhältnisse vor wie beim Lyssavirus, das nach Kaninchenpassage bei subduraler Impfung seine Inkubationszeit von ungefähr 3 Wochen auf etwa 7 Tage verkürzt.

Auch bei spontaner Infektion ist die Virulenz des Virus sehr verschieden. Zuweilen verläuft die Krankheit sehr gutartig, in anderen Fällen sterben sehr viele Tiere daran. Die oben beschriebene Form, bei der anstatt der Pocken blutige Krusten auf Kamm und Kehllappen entstehen, kommt spontan auch vor und scheint meistens mit einer hohen Mortalität gepaart zu sein. Ferner sehen wir, wie schon oben erwähnt wurde, in der Praxis zuweilen eine derartige Aenderung des Virus auftreten, daß ausschließlich nur diphtheritische Mund- und Augenaffektionen dadurch hervorgerufen werden. Das Virus scheint in diesen Fällen seine große Avidität für die Haut verloren zu haben, was aber keineswegs eine Abnahme der Pathogenität zu bedeuten braucht.

Die Eigenschaften des Geflügelpockenvirus.

Das Virus. Wie schon vorher gesagt wurde, kann man nach den Untersuchungen von Marx und Sticker (20) das Agens der Geflügelpocken unter die filtrierbaren Virusarten rechnen. Unsichtbar ist es aber nicht.

Derjenige, der das Virus zuerst mikroskopisch nachwies, war Borrel (21). Diesem Forscher gelang es, im Pockenmaterial äußerst feine Körperchen zu erkennen, die Kokken glichen. Diese Befunde sind danach von Burnet (13), von Prowazek (23), Lipschütz (22) und anderen bestätigt worden, und man betrachtet nun allgemein die Borrelschen Körperchen als das eigentliche Geflügelpockenvirus.

Mit Giemsa-Färbung kann man meistens ziemlich deutliche Bilder von diesen 0,3—0,6 μ großen Körperchen erhalten, und auch mit Dunkelfeldbeleuchtung sind sie nachzuweisen.

Es soll hier auf die Morphologie dieses Ansteckungsstoffes nicht näher eingegangen werden, da genaue Beschreibungen in der Literatur zu finden sind [bei Burnet (13), Lipschütz (22) u. a.]. Es sei hier nur folgendes erwähnt: Eine Anzahl von Hühnerpassagen hatte das Virus, das mir zur Verfügung stand, zu einer gewissen Zeit derartig verändert, daß es bei intravenöser Einspritzung nicht so sehr Pocken hervorrief, sondern mehr einen Bläschenausschlag erzeugte. Diese Bläschen, welche auf dem Kamm saßen, zeigten in ihrem Anfangsstadium einen vollkommen klaren Inhalt, der sich ausgezeichnet für eine mikroskopische Untersuchung eignete. Bei Giemsa-Färbung zeigte sich, daß die klare Lymphe von Borrelschen Körperchen wimmelte. Sämtliche in der Literatur beschriebenen Formen konnten bei starker Vergrößerung an den Präparaten beobachtet werden. Die Körperchen zeigten im allgemeinen die Kokkenform, doch wurden ovale und eckige Exemplare gleichfalls wahrgenommen. Zuweilen bildeten sie kleine Ketten von 2 oder 3 Exemplaren. Ein einziges Mal schien es, als ob die Körperchen in einer Kolonie beieinander lagen. Man sah da ein dichtes Zentrum, von dem aus die in der Umgebung befindlichen Elemente strahlenförmig ausschwärmten.

Empfindlichkeit des Geflügelpockenvirus gegen Kaninchengalle.

Da wir wissen, daß das Pockenvirus der Säugetiere durch Kaninchengalle getötet wird, während Schizomyzeten im allgemeinen ziemlich unempfindlich sind gegen diesen Stoff, so war es interessant, die Wirkung dieser Substanz auf das Geflügelpockenvirus zu studieren. Zu diesem Zwecke wurde sehr fein geriebenes Geflügelpockenmaterial etwa 10 Std. lang der Einwirkung frischer Kaninchengalle ausgesetzt und der Kamm von 4 Versuchshühnern damit eingerieben.

Mit dem nicht vorbehandelten Material wurden 4 Kontrollhühner infiziert.

Resultat: Die 4 Kontrollhühner bekamen einen heftigen Pockenausschlag, während die 4 mit Kaninchengallenvirus behandelten Hühner absolut nichts zeigten. Später zeigte sich, daß diese Hühner auch nicht immun waren gegen eine experimentelle Geflügelpockeninfektion.

Es wird daher auch das Geflügelpockenvirus durch länger andauernde Einwirkung der Kaninchengalle getötet.

Filtrierbarkeit des Geflügelpockenvirus.

1902 wiesen Marx und Sticker (20) nach, daß das Geflügelpockenvirus imstande ist, durch Filter hindurchzugehen. Es gelang ihnen nämlich, mit Berkefeld-Filtraten bei Hühnern Pocken hervorzurufen.

Impfversuche, die in der gleichen Weise mit Chamberland B- und F-Kerzen angestellt wurden, verliefen vollkommen negativ. Hieraus zogen die genannten Autoren den Schluß, daß das Virus imstande sei, durch Berkefeld-Kerzen hindurchzugehen, daß es jedoch von Chamberland-Filtern vollkommen zurückgehalten wird.

Es ist selbstverständlich, daß diese Untersuchungen großes Interesse erregten, da die ätiologische Bedeutung der in jener Zeit beschriebenen, nicht-filtrierbaren Mikroorganismen damit nahezu ausgeschaltet wurde.

1904 hat Juliusberg (29) die Versuche von Marx und Sticker teilweise wiederholt und das Hindurchgehen des Virus durch Berkefeld-Filter bestätigt.

Die umfangreichsten Untersuchungen wurden aber in dieser Hinsicht 1906 von Burnet (13) angestellt. Dieser Gelehrte verwandte für seine Versuche verschiedene Kerzenarten, u. a. Berkefeld, Chamberland F und weiterhin eine Reihe von Porzellanfiltern, die speziell zu diesem Zwecke hergestellt waren. Diese letzteren Kerzen waren durchgängiger als die Chamberland F-Kerze. Mit den Filtraten wurden Impfungen vorgenommen, und, je nachdem dieselben positiv oder negativ ausfielen, wurde der Schluß gezogen, daß der Infektionsstoff durch die Kerze hindurchgegangen sei oder nicht.

Ich möchte hier einen Augenblick die Aufmerksamkeit auf das Gewagte einer derartigen Schlußweise lenken. Es ist meiner Ansicht nach sehr gut möglich, daß ein Teil des Virus durch eine feine Kerze hindurchgeht, ohne daß derselbe noch imstande ist, ein positives Resultat zu liefern. Man kann zugunsten dieser Ansicht folgendes anführen:

1) Es ist möglich, daß das Virusquantum nach der Filtration so gering ist, daß es nicht mehr imstande ist, eine Infektion zu verursachen.

2) Es können durch das Filtrieren bestimmte größere Entwicklungsformen des Virus zurückgehalten werden, welche für die Infektion nötig sind. (Juliusberg, Deutsch. med. Wochenschr. 1904.)

3) Es kommt mehrfach vor, daß von mehreren Hühnern, die man energisch mit Berkefeld-Filtraten geimpft hat, doch nur ein einziges Exemplar die Krankheit bekommt.

Kehren wir aber nun zurück zu den Untersuchungen Burnets (13).

Er erhielt kein einziges Impfresultat mit dem Chamberland F-Filtrat, sehr wohl jedoch mit den Filtraten der Berkefeld-Kerze und den gröberen Spezialsorten aus Porzellan.

Burnet zog daraus den Schluß, daß das Virus durch die Chamberland F-Kerze zurückgehalten wird, was seitdem denn auch allgemein angenommen wird. Meiner Ansicht nach ist diese Auffassung nicht berechtigt.

1909 haben v. Prowazek und de Beaurepaire (23) Untersuchungen über das Geflügelpockenvirus angestellt. Sie untersuchten, ob das Pockenvirus der Taube imstande sei, durch Kolloidschichten hindurchzugehen. Sie verwendeten zu diesem Zwecke Papierfilter, die mit einer 3-proz. Agar-Agarschicht ziemlich dick überzogen waren. Es zeigte sich, daß die gewonnenen Filtrate nicht imstande waren, bei den Versuchstieren Immunität zu erzeugen. Ein Durchgang durch Kolloidschichten hat demnach nach ihnen nicht stattgefunden.

Eigene Filtrierversuche.

Berkefeld-Kerze. Die Mitteilungen über Filtration durch Berkefeld-Kerzen können kurz gefaßt werden, weil die Ergebnisse ganz mit den bekannten Tatsachen übereinstimmen.

Das Filtriermaterial wurde in der Weise gewonnen, daß das Pockenmaterial mit einer etwa 30-fachen Menge physiol. Kochsalzlösung fein gerieben und verdünnt wurde. Darauf wurde filtriert und mit dem bakteriologisch kontrollierten Filtrat wurden 5 Versuchshühner intravenös infiziert.

No. 1 zeigte nach einer Inkubationszeit von 8 Tagen Erscheinungen wie Pocken auf Kamm und Kehllappen nebst einer diphtheritischen Entzündung der Mundschleimhaut. Diese Krankheitserscheinungen nahmen langsam an Heftigkeit zu, und das Tier starb 21 Tage nach der Infektion.

No. 2 hat niemals irgendeine Krankheitserscheinung gezeigt.

No. 3 bekam nach einer Inkubationszeit von 8 Tagen einige kleine Pocken auf dem Kamm, die bald vertrockneten und in Heilung übergingen.

No. 4 hat niemals irgendeine Krankheitserscheinung gezeigt.

No. 5 zeigte nach einer Inkubationszeit von etwa 15 Tagen eine geringe Mundaffektion, die ein paar Tage an Heftigkeit zunahm, um dann zu verschwinden.

Die erhaltenen Resultate stimmen also mit denen früherer Untersuchungen überein.

Auch jetzt wurde eine Verlängerung der Inkubationszeit festgestellt.

Gleichzeitig erbrachten diese Versuche den Nachweis, daß es möglich sei, mit dem Filtrat von seinem Pockenmaterial nach intravenöser Einspritzung krupös-diphtheritische Membranen im Munde hervorzurufen. Der gegenseitige Zusammenhang zwischen diesen Schleimhautmembranen und den Hautaffektionen ist damit erwiesen.

Chamberland F-Kerze. Das Filtrat wurde in der gleichen Weise gewonnen wie bei den Berkefeld-Kerzen. Die Sterilität wurde kontrolliert.

Im ganzen wurden 6 Hühner geimpft. Um einige Aussicht auf Erfolg zu haben, wurde den Tieren eine sehr große Dosis des Filtrates (10—15 ccm) intravenös eingespritzt. Kein einziges Tier hat irgendeine Krankheitserscheinung infolge der Impfung gezeigt.

Dieses Resultat stimmt also vollkommen mit den Befunden von Marx und Sticker, Burnet und anderen überein.

Oberflächlich betrachtet, würde man also geneigt sein, anzunehmen, daß das Geflügelpockenvirus nicht durch die Chamberland F-Kerze hindurchgehe.

Ungefähr einen Monat später wurden die mit Filtrat behandelten Tiere aufs neue mit stark virulentem Material auf dem Kamm und im Munde infiziert. Die gleiche Behandlung fand bei 3 nicht vorbehandelten Kontrollhühnern statt. Das Resultat war überraschend.

Von den 6 mit Filtrat vorbehandelten Hühnern blieben 4 vollkommen gesund, 1 wurde äußerst wenig und 1 ernsthaft von der Krankheit ergriffen. Die 3 Kontrollhühner gingen aber innerhalb 3 Wochen an der Infektion zugrunde.

Die vorbehandelten Tiere besaßen also einen gewissen Grad von Immunität.

Chamberland B-Kerze. Bei diesen Filtrationsversuchen wurde folgendermaßen zu Werke gegangen.

Das Material (mittels eines scharfen Löffels vom Kamm abgekratzte Geflügelpocken), welches das Virus enthielt, wurde in einem Mörser zu einer salbenartigen Masse feingerieben. Die Masse wurde mit physiologischer Kochsalzlösung stark verdünnt und 24 Std. lang in einem Schüttelapparat stark geschüttelt.

Darauf wurde die Flüssigkeit mit Hilfe eines groben Filtrierpapiers von seinen gröberen Bestandteilen befreit und dann durch eine Chamberland B-Kerze filtriert. Das Filtrat genügte den gestellten Anforderungen.

Am 3. Okt. 1915 wurde 8 vollständig gesunden Hühnern etwa je 30 ccm Filtrat in die Flügelader eingespritzt. Wenn dieses gut ausgeführt wird und keine Luftblasen in die Ader miteingespritzt werden, vertragen die Hühner eine derartige intravenöse Dosis sehr gut. Am 10. Okt. erhielten die Tiere wiederum etwa je 40 ccm Chamberland B-Filtrat intravenös. Auch dieses Mal trat keine Reaktion ein. Am 17. Okt. erhielt jedes Tier nochmals intravenös ungefähr 40 ccm Chamberland B-Filtrat.

3 Wochen nach der letzten intravenösen Einspritzung wurde bei den 8 Filtrathühnern sowie auch bei 8 Kontrollhühnern[1]) der Kamm mit sehr virulentem Geflügelpockenmaterial eingerieben. Die Resultate waren derart, daß sie nicht den geringsten Zweifel übrig ließen.

---

[1]) Die 8 Kontrollhühner stammten von demselben Besitzer her wie die 8 Filtrathühner. Sie wurden vom Beginne des Versuches ab in der gleichen Weise eingestallt und gefüttert wie diese letzteren.

Sämtliche Kontrollhühner erkrankten heftig und lange und bekamen starke Pockenausschläge auf Kamm und Kehllappen. 2 Tiere sind infolge der Infektion gestorben. Diphtheritische Mundmembranen wurden bei allen in ausgedehntem Maße beobachtet.

Die Filtrathühner sind dagegen fast gar nicht krank gewesen. 3 Tiere zeigten absolut keine Krankheitserscheinungen. Die übrigen 5 Filtrathühner zeigten zwar eine geringe Pockeneruption auf dem Kamm, jedoch war diese nach Ablauf von ungefähr 10 Tagen vollkommen verschwunden (Abortivreaktion).

Pocken auf den Kehllappen nebst diphtheritischen Membranen im Munde, wie diese bei den Kontrollhühnern beobachtet wurden, kamen bei den Filtrathühnern nicht vor.

Aus dem Versuche ergab sich aufs deutlichste, daß bei den Filtrathühnern eine ziemlich große Immunität hinsichtlich des Geflügelpockenvirus entstanden war.

Darf man nun daraus den Schluß ziehen, daß das Geflügelpockenvirus durch die Chamberland B- und F-Kerze hindurchgeht?

Meine persönliche Auffassung neigt entschieden dazu, wenn man auch zugeben muß, daß man durch Einspritzung von Virusextrakten bei einigen Krankheiten Immunität erzeugen kann. Solange wir das Virus nicht kennen, bleibt dieses letztere eine offene Frage.

Die enge Verwandtschaft zwischen Geflügelpocken und Vakzinevirus.

Wie schon im Beginne dieser Abhandlung gesagt wurde, bestand im Mittelalter die Neigung, Geflügel- und Menschenpocken als identische Krankheiten anzusehen.

Diese Ansicht stützte sich auf das vielfach gleichzeitige Herrschen beider Krankheiten. Diese Vorstellungen wurden aber großenteils verdrängt durch die Untersuchungen Spinolas 1858, der, wie gesagt, nachwies, daß die Geflügelpocken nicht auf Säugetiere zu übertragen seien, und daß ferner der Vogel unempfänglich sei gegen die Variola der Säugetiere.

Wir werden aber sehen, daß man den Versuchen Spinolas keinen großen Wert beimessen darf.

Es ist mir nämlich gelungen:

1) mittels des Geflügelpockenvirus bei Säugetieren Pockenausschläge zu erzeugen und das Virus weiter zu züchten;

2) mit dem Vakzinevirus auf dem Kamm von Hühnern einen Pockenausschlag zu erzeugen, der vollständig mit dem übereinstimmt, wie wir ihn in manchen Fällen echter Geflügelpocken beobachten.

Nach Spinola war es Bollinger (10), der 1873 die Identitätsgedanken zum Wanken brachte. Es gelang ihm nämlich nicht, Geflügelpocken auf Schaf und Ziege zu übertragen.

v. Betegh (7) gelang es dann 1915, mit dem Schafpockenvirus bei Hühnern einen typischen Pockenausschlag auf dem Kamm hervorzurufen.

Wir ersehen daraus, daß die Gründe, aus denen sich die Vorstellungen von der Identität der Geflügel- und Säugetierpocken geändert haben, nicht sehr stichhaltig sind. Möge der folgende Teil dieser Abhandlung dazu beitragen, jene ursprünglichen Auffassungen einigermaßen in Ehren wiederherzustellen. v. Betegh (7) sagt 1913 hierüber folgendes:

„Daß das Virus der Geflügelpocke in der Tat eine artverwandte Spezies der Säugetierpockenerreger ist, dafür sprechen folgende Beweise. Die Tenazität ist eine außerordentliche. Bekanntermaßen behält das Säugetierpockenvirus, kurz Variola genannt, sogar monatelang die volle Virulenz in den Borken. Dasselbe ist auch bei der Geflügelpocke zu beobachten. Man trifft hier auch denselben Dermatropismus, wie bei der Variola. Mit dem lokalen Prozesse ist der ganze Organismus aktiv immunisierbar;

diese Immunität ist von langer Dauer; die lokale Erkrankung kann eine Generalisierung des Virus zur Folge haben; beide Virusarten sind morphologisch und biochemisch ähnlich; die Reinzüchtung ist bis jetzt außerhalb des Organismus mit Sicherheit bei keiner Virusart gelungen; beide Erreger sind in den Pockenborken in großer Menge vorhanden; die Inkubationszeit beider Virusarten ist fast dieselbe; beide verhalten sich gegen Glyzerin ähnlich, desgleichen weisen sie eine ausgesprochene Widerstandsfähigkeit gegen Chemikalien auf, und schließlich sind beide in einem gewissen Entwicklungsstadium filtrierbar."

Durch die Betrachtungen v. Beteghs geleitet, versuchte ich, diese wichtige Frage experimentell genauer zu untersuchen. Von der größten Bedeutung war es, zu wissen, ob es möglich sei, durch Geflügelpockenvirus bei Säugetieren Pocken hervorzurufen. Es wurden zu diesem Zwecke die üblichen Versuchstiere, Kaninchen und Kalb, verwendet. Es sei zuvor bemerkt, daß bei diesen Versuchen mit einem Geflügelpockenvirus gearbeitet wurde, das ungefähr $^1/_2$ Jahr lang wiederholt von einem Huhn auf das andere übertragen worden war.

Am 27. Febr. 1915 wurde **Kaninchen 1** auf der kahlgeschorenen Rückenhaut mit virulentem Geflügelpockenmaterial eingerieben. Die Haut war zuvor gut gereinigt worden und mit feinem Sandpapier leicht gereizt. Eine leichte Hyperämie war die Folge dieser Vorbereitung.

28. Febr.: Hyperämie der Haut. 1. März: Hyperämie und Infiltration. 2. März: Die Infiltration nimmt zu, Borkenbildung. 3. März: Starke, konfluierende Eruption. Einzelne Pocken nicht vorhanden.

4. März: Die Borke wird mit lauwarmem Seifenwasser gereinigt, abgespült und dann mit einem scharfen Löffel abgekratzt. Der Ertrag wird mit physiologischer Kochsalzlösung feingerieben und direkt auf Kaninchen 2 gebracht.

Kaninchen 2. Am 4. März: Geimpft auf die kahl geschorene und leicht gereizte Rückenhaut mit Impfstoff von Kaninchen 1. Auch dieses Tier zeigte etwa 3—4 Tage nach der Impfung eine deutliche konfluierende Eruption.

Kaninchen 3. Am 13. März: Auf vollständig gleiche Weise mit virulentem Geflügelpockenvirus eingerieben wie Kaninchen 1. Somit eine Wiederholung der vorhergehenden Versuche. 14. März: Hyperämie und geringe Infiltration. 15. März: Infiltration nimmt zu. 16. März: Gleichfalls. 17. März: Borkenbildung. 18. März: Starke, konfluierende Eruption. 19. März: Nach Reinigung mit lauwarmem Seifenwasser wird die Borke abgekratzt. Der Ertrag wird mit 30-proz. Glyzerin feingerieben und damit Kaninchen 4 und ein Kalb geimpft.

Kaninchen 4. Am 19. März: Auf der Rückenhaut geimpft mit Stoff von Kaninchen 3. Ungefähr 4 Tage nach der Impfung zeigt das Tier eine konfluierende Eruption. Bildung einzelner Pocken ist nicht vorhanden. 24. März: Die Borke wird nach Reinigung mit Seifenwasser abgekratzt. Der Ertrag wird mit physiologischer Kochsalzlösung eingerieben und direkt auf Kaninchen 5 gebracht.

Kaninchen 5. Am 24. März: Auf der kahlgeschorenen Rückenwand geimpft mit Stoff von Kaninchen 4. Das Virus war also von dem Huhne ab gerechnet schon 2mal durch den Kaninchenorganismus gegangen. 29. März: Der Ertrag wird mit 30-proz. Glyzerin feingerieben und auf die Rückenhaut von Kaninchen 6 gebracht.

Kaninchen 6. Am 29. März: Auf dem Rücken geimpft mit Stoff von Kaninchen 5. Dieser Stoff ist vom Huhne ab gerechnet schon 3mal durch den Kaninchenkörper gegangen. 31. März: Hyperämie und geringe Infiltration. 1. April: Hyperämie und zunehmende Infiltration. 2. April: Gesteigerte Infiltration. 3. April: Borkenbildung. 4. April: Heftige, konfluierende Eruption. An verschiedenen Stellen (besonders dort, wo die Haut durch das Sandpapier weniger gereizt war) Bildung einzelner Pocken. Die Pocken zeigten den typischen Bau mit deutlich wahrnehmbarer Dellenbildung Bläschen und Pusteln waren vorhanden. Die Borke wurde mit lauwarmem Seifenwasser gereinigt, abgespült und dann abgekratzt.

Kaninchen 7. Am 22. April: Geimpft auf die kahlgeschorene Rückenhaut mit virulentem Geflügelpockenmaterial. 23. April: Hyperämie und geringe Infiltration. 24. April: Zunehmende Infiltration. 25. April: Gleichfalls. 26. April: Gleichfalls Borkenbildung. 27. April: Konfluierende Eruption. Bildung einzelner Pocken nicht vorhanden. Die Borke wird mit lauwarmem Wasser gereinigt und abekratzt. Der Ertrag wird mit 40-proz. Glyzerin feingerieben, 2 Tage lang im Eisschrank aufbewahrt und dann mit positivem Resultat auf die Bauchhaut eines Kalbes geimpft.

Bei meinen weiteren Versuchen ergab sich, daß das große Quantum des Ertrages, ungefähr 4—5 g, teilweise durch die vorhergehende Reizung der Haut mit Sandpapier hervorgerufen wurde.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Später habe ich mehrere Kaninchen ohne Reizung der Haut infiziert. Bei diesen Tieren war der Ertrag geringer ($1^1/_2$—$2^1/_2$ g). Es traten aber gleichfalls sehr schöne Ausschläge auf, und vor allem nach Kaninchenpassage wurde der Ertrag reichlich ($2^1/_2$ – 3 g). Die Reaktionen ließen an Deutlichkeit nichts zu wünschen übrig.

Bei diesen letzteren Versuchen wurden stets Kontrollkaninchen verwendet. Diese wurden dann in gleicher Weise eingerieben, jedoch trat an die Stelle des glyzerinierten Pockenmaterials nur Glyzerin oder glyzerinierte Exsudatborken. (Diese Borken hatte ich zuvor nur durch Reizung des Kammes bei Hühnern erzeugt. Sie enthalten also die normale Flora des Huhnes, jedoch kein Pockenvirus.)

Es waren stets deutliche Unterschiede zwischen den Geflügelpocken- und den Kontrollkaninchen zu beobachten.

Schlußfolgerung. Es ist möglich, mittels Geflügelpockenvirus bei den Kaninchen auf der Haut Reaktionen zu erregen, die völlig mit denen übereinstimmen, welche durch das Vakzinevirus verursacht werden. Konfluierende Eruptionen sind die Regel, einzeln auftretende Pocken mit Dellenbildung werden aber nach einigen Kaninchenpassagen konstatiert.

Sehr wichtig war es, zu erfahren, ob es möglich sein würde, mit dem Geflügelpockenvirus beim Kalbe Pocken zu erzeugen.

Es wurden folgende Versuche angestellt:

Kalb 1. Am 20. März wurde ein junges Kalb im Alter von etwa $2^1/_2$ Monaten mit virulentem Geflügelpockenmaterial auf der Bauchwand eingerieben.

Das Kalb wurde für diesen Zweck in Rückenlage gebracht, die Haut sorgfältig kahl geschoren, gewaschen und mit dem Vakzinostyle von Maréchal skarifiziert. Blutungen wurden dabei soviel wie möglich vermieden. Dann wurde das Geflügelpockenmaterial tüchtig eingerieben, bis die Skarifikationslinien eine hinreichende Schwellung zeigten.

Das geimpfte Stück wurde mittels einer für diesen Zweck angefertigten Schürze vor Verunreinigung geschützt.

Das Resultat dieses Versuches war in hohem Grade wichtig.

Am 24. März, also gute 4 Tage nach der Impfung, war eine geringe, jedoch typische Pockenreaktion vorhanden.

Die hervorgerufenen Pocken glichen vollständig denen, welche man mit dem Vakzinevirus bei Kälbern erzeugt (Dellen-Bläschen), und sie wurden auf und zwischen den Skarifikationslinien beobachtet.

Die hervorgerufenen Pocken wurden am 24. März mit einem scharfen Löffel abgekratzt und lieferten einen Ertrag von etwa 2 g.

Kalb 2. Der mit diesem Kalb angestellte Versuch war durchaus eine Wiederholung des vorhergehenden. Auch dieses Mal wurde ausgegangen von frischem Geflügelpockenmaterial. Das Ergebnis war das gleiche wie bei Kalb 1.

Schlußfolgerung. Auf Grund der Tatsache, daß die Reaktionen auf das Virus der Geflügelpocken und der Vakzine bei Kälbern die gleichen sind, wird es wahrscheinlich, daß eine enge Verwandtschaft zwischen den beiden Infektionsstoffen besteht.

Rind. Am 14. Mai 1915 wurde ein $1^1/_2$-jähriges Rind an der rechten Halsseite mit Geflügelpockenvirus infiziert. Der Hals wurde kahlgeschoren, dann wurde er zum Teil mit Sandpapier (Schmirgelpapier) gereizt, zum Teil skarifiziert. Beide Hautstücke wurden dann mit Geflügelpockenmaterial eingerieben. Ungefähr 6 Tage nach der Infektion zeigte sich eine schöne Pockeneruption. Die Pocken saßen nicht nur auf und zwischen den Skarifikationslinien, sondern etwa 40 cm von der Impfstelle entfernt waren sie noch in enormer Anzahl vorhanden. Die Reaktion war charakterisiert durch eine starke Infiltration des infizierten Halsteiles, Schmerzhaftigkeit und ziemlich langsame Heilung. Der Verlauf dauerte etwa 3 Wochen. Der Allgemeinzustand des Tieres ließ während dieser Zeit nichts zu wünschen übrig.

Pockeneruptionen bei Hühnern infolge des Vakzinevirus.

Die Resultate dieser Versuche sind kurz folgende:

Es wurden mehrere Hühner auf dem Kamm mit Vakzinevirus geimpft.

Eine typische Pockeneruption war stets die Folge der Impfung Es ist dieses eine spezifische Reaktion, da es mit keinem anderen Mikroorganismus gelingt, ein derartiges Bild hervorzurufen.

Es wurden zu diesem Zwecke mehrere Kontrollversuche in dieser Beziehung angestellt, stets aber mit negativem Resultat. Die erzeugten Pockeneruptionen zeigen eine größere Neigung zur Suppuration, als dieses im allgemeinen bei den Geflügelpocken der Fall ist. Jedoch kann das typische Bild der echten Geflügelpocken sich zuweilen derartig ändern, daß es genau dem gleicht, wie man es mit der Vakzine bei Hühnern erzeugt.

Intravenös angewendet, liefert das Vakzinevirus beim Huhn keine wahrnehmbare Reaktion. Nur die Kammimpfung ist zweckmäßig und erzeugt Immunität gegen das Geflügelpockenvirus.

Auf Grund der Tatsache, daß man mit Geflügelpockenvirus und Vakzinevirus beim Huhn ein gleichwertiges Bild erzeugen kann, ist man zu der Annahme berechtigt, daß diese beiden Virus phylogenetisch dicht nebeneinander stehen.

Pockeneruption beim Huhn durch Taubenvirus.

Im Oktober 1916 hatte ich Gelegenheit, eine Tatsache festzustellen, welche dafür spricht, daß die Pockenausschläge, welche durch das Vakzinevirus bei Hühnern erzeugt werden, nicht nur spezifischer Art sind, sondern eng verwandt sind mit den echten Geflügelpocken.

Zu dieser Zeit wurde nämlich dem Institut für parasitäre und Infektionskrankheiten eine Taube zur Untersuchung eingesandt, bei welcher die klinische Diagnose lautete: „Geflügelpocken“. Mit dem Material dieser Taube wurden 2 Hühner auf dem Kamm geimpft.

Einige Tage danach entwickelte sich eine typische Pockeneruption, welche ganz und gar derjenigen glich, die wir beim Vakzinevirus antreffen: Einzelne eiterige Pusteln, die schnell vertrocknen und als ziemlich große Warzen einige Zeit sitzen bleiben.

Diese Impfreaktion sehen wir also bei Hühnern auftreten: 1) bei Vakzinevirus; 2) bei Taubenpockenvirus (Taubenvirus ist identisch mit Hühnervirus); 3) bei Hühnervirus, das längere Zeit im Eisschrank in 50 proz. Glyzerin aufbewahrt worden ist.

Schlußfolgerung. Es scheint, daß eine derartige Reaktion hervorgerufen wird durch ein Virus, das aus dem einen oder dem anderen Grunde für das Huhn weniger virulent geworden ist.

Steigerung der Virulenz des Geflügelpockenvirus mit Bezug auf das Kalb, infolge Kaninchenpassage.

Da im allgemeinen die Virulenz des Vakzinevirus für das Kalb infolge der Kaninchenpassage gesteigert wird, war es von Interesse, diese Frage auch hinsichtlich des Geflügelpockenvirus zu untersuchen.

Die angestellten Versuche haben bewiesen, daß das letztere Agens, ebenso wie das Vakzinevirus, durch Kaninchenpassage für das Kalb verstärkt wird.

Kalb 3 wurde am 27. März in derselben Weise eingerieben wie Kalb 1 mit Geflügelpockenmaterial, das einmal durch ein Kaninchen gegangen war. Am 1. April, also 5 Tage nach der Impfung, zeigt das Tier eine deutliche und typische Pockeneruption. Die Pocken zeigen prachtvolle Dellen und sitzen auf und zwischen den Skarifikationslinien. Der Ertrag betrug ungefähr 1 g, war also noch gering.

Kalb 4 wurde am 11. April in der gleichen Weise eingerieben wie Kalb 1, und zwar mit einem Geflügelpockenmaterial, das 3mal durch ein Kaninchen gegangen war. Das Virus war von gleicher Herkunft wie dasjenige, welches bei Kalb 3 angewendet wurde. Am 4. April, also 4 Tage nach der Impfung, zeigt das Kalb eine starke Reaktion. Die Pocken sitzen in Reihen auf den Skarifikationslinien, und auch dazwischen werden sie in großer Zahl beobachtet.

Bläschen und typische Dellenbildung sind vorhanden. Der Ertrag belief sich auf ungefähr 16 g reinen Materials.

Einige Monate später wurde die Steigerung der Virulenz durch Kaninchenpassage auf eine noch deutlichere Art nachgewiesen. Es zeigte sich nämlich einmal, daß das Geflügelpockenmaterial nicht mehr imstande war, beim Kalb Pocken hervorzurufen. Die Reaktion verlief bei 4 infizierten Kälbern vollkommen negativ.

Wir entschlossen uns, zu versuchen, durch Kaninchenpassage die Virulenz wiederherzustellen, was vollkommen gelang. Nach einer 3maligen Impfung ergab sich, daß das Virus wiederum imstande war, bei mehreren Kälbern Pocken hervorzurufen.

Schlußfolgerung: Es ergibt sich, daß durch Kaninchenpassage die Virulenz des Geflügelpockenvirus hinsichtlich des Kalbes zunimmt.

Ein junges Rind wurde am Halse eingerieben (Skarifikationsmethode) mit einem Geflügelpockenmaterial, das 4mal durch das Kaninchen gegangen war. Nach einigen Tagen entstand eine schöne Pockeneruption.

Das Pockenmaterial wurde abgenommen und auf die rechte Bauchwand eines Kalbes gebracht. Die linke Bauchwand wurde mit dem Material eingerieben, mit dem das junge Rind geimpft worden war, also mit einem Geflügelpockenmaterial, das nur 4mal durch das Kaninchen gegangen war. Nach einigen Tagen zeigte das Kalb sowohl auf der rechten wie auf der linken Seite eine typische Reaktion. Die Reaktion auf der rechten Seite war aber lange nicht so heftig wie die auf der linken.

Der Unterschied beruhte vor allem in der geringeren Anzahl der Pocken, einer geringeren Infiltration und dem viel schnelleren Vertrocknen der Variola. Das ganze Bild bewies in deutlicher Weise eine Abnahme der Virulenz des Geflügelpockenvirus durch Rinderpassage.

Immunitätsverhältnisse beim Geflügelpocken- und beim Vakzinevirus.

Da wir im vorigen Kapitel gesehen haben, daß es möglich ist, mittels Geflügelpockenvirus bei Kälbern und Kaninchen Ausschläge hervorzurufen, die ganz und gar mit den gewöhnlichen Vakzineeruptionen übereinstimmen, so lag es nahe, zu versuchen, ob diese Frage einer Verwandtschaft durch Immunitätsversuche bestätigt wird.

I. Versuch. Am 20. Juli 1915 wurden 5 Versuchshühner auf dem Kamm mit Vakzine eingerieben. Nach einigen Tagen zeigten sämtliche Tiere eine deutliche Pockenreaktion, die bald in Heilung überging. Am 3. Aug. 1915 waren sämtliche Tiere wiederhergestellt. Am 15. Aug. wurden diese Vakzinehühner mit Geflügelpockenmaterial auf dem Kamm infiziert, während 5 gesunde Hühner zur Kontrolle ebenfalls mit dem gleichen infektiösen Material eingerieben wurden.

Resultat: Sowohl die Vakzine- wie die Kontrollhühner bekamen Pockeneruptionen auf dem Kamm, jedoch war ein enormer Unterschied im Verlauf der Krankheit zu beobachten.

Sämtliche Vakzinehühner zeigten eine sogenannte Abortivreaktion, d. h. nach 3 Tagen begannen die Pocken schon zu vertrocknen und nach 10 Tagen waren diese Tiere vollständig wiederhergestellt.

Die Kontrollhühner sind wochenlang krank gewesen. Sie magerten stark ab, während 2 Tiere der Krankheit erlagen.

Auf Grund dieses Versuchsergebnisses ist man zu der Annahme geneigt, daß das Vakzinevirus imstande sei, eine Immunität gegen Geflügelpockenvirus zu erzeugen.

Man könnte aber folgende Bedenken dagegen anführen:

Ist es nicht vielleicht möglich, daß durch das Vakzinevirus auf dem Kamm eine derartige Entzündung hervorgerufen worden ist, daß das Epithel zum großen Teil verwüstet wurde und durch Bindegewebe ersetzt wurde?

Da das Geflügelpockenvirus in erster Linie ein Epithelparasit ist, könnte man den Einwand machen, daß ein derartig veränderter Kamm nicht mehr einen guten Boden für das Geflügelpockenvirus darstellen wird.

Ich habe deshalb gemeint, diesen Versuch wiederholen zu müssen, und bin dabei folgendermaßen zu Werke gegangen. Am 20. Nov. 1916 wurden 5 Hühner mit kräftigen Kämmen mittels Vakzinevirus infiziert. Zu diesem Zwecke wurde die rechte Kammseite zuerst mit ein wenig Wasser rein gemacht und dann leise mit Hilfe eines Wattestückchens mit Vakzine eingerieben. Blutungen fanden dabei nicht statt. Von einer starken Reizung war keine Rede.

Alle 5 Versuchshühner bekamen nach einer Inkubationszeit von einigen Tagen einen typischen Vakzineausschlag auf der rechten Kammseite. Die linke Kammseite blieb aber vollständig gesund. Nachdem die Tiere vollkommen genesen waren, wartete ich noch ungefähr 1 Monat. Zu dieser Zeit zeigten die Tiere vollkommen normale und glatte Kämme.

Nun wurden sie auf der linken Seite mit Geflügelpockenvirus infiziert, während 5 nicht vorbehandelte Kontrollhühner gleichfalls mit Geflügelpockenvirus eingerieben wurden.

Das Resultat war überraschend:

Während die 5 Kontrolltiere starke Pockeneruption auf dem Kamme zeigten und lange Zeit schwer krank waren, wiesen die mit Vakzine vorbehandelten Hühner kein einziges Krankheitssymptom auf. Hiermit ist der Beweis dafür erbracht, daß das Vakzinevirus imstande ist, eine lokale Immunität gegen Geflügelpockenvirus hervorzurufen.

Wahrscheinlich sind beide Virusarten phylogenetisch eng miteinander verwandt. Eine allgemeine Immunität hinsichtlich des Geflügelpockenvirus wird wahrscheinlich durch das Vakzinevirus bei den Hühnern nicht erzeugt. Dieses beweist der folgende Versuch:

II. Versuch. Am 1. Sept. 1915 wurden 10 Hühner stark mit Vakzinevirus infiziert. Die Hals- und Brustfedern wurden entfernt und die entblößten Stellen mit großen Mengen Vakzine energisch eingerieben. Jedes Tier bekam gleichzeitig ungefähr $^1/_4$ g Vakzine intravenös. Der Kamm wurde aber bei keinem der Hühner mit Vakzine infiziert.

Die Tiere reagierten heftig. Es traten an Hals und Brust ausgedehnte Oedeme auf. Starke Abmagerung. Nach 12 Tagen waren sie aber wiederhergestellt.

Am 30. Sept. wurden diese 10 Vakzinehühner nebst 10 Kontrollhühnern auf dem Kamm mit Geflügelpockenmaterial eingerieben.

Resultat: Alle 20 Hühner bekamen in geringerem oder stärkerem Grade Geflügelpocken. Ein Unterschied in der Reaktion war bei den Vakzine- und Kontrollhühnern nicht wahrzunehmen.

Schlußfolgerung: Das Resultat läßt sich auf zweierlei Weise auslegen: Wahrscheinlich ist, daß das Vakzinevirus beim Huhn keine allgemeine Immunität gegen das Geflügelpockenvirus erzeugt.

Es ist aber auch möglich, daß eine geringe allgemeine Immunität hervorgerufen wird, diese jedoch nicht imstande ist, die Tiere gegen eine heftige Geflügelpockeninfektion zu schützen. Etwas Aehnliches sehen wir bei heftigen Pockenepidemien beim Menschen, bei solchen fallen zuweilen auch vakzinierte Personen der Infektion zum Opfer.

III. Versuch. Nachdem bei den vorhergehenden Experimenten versucht worden war, mittels des Vakzinevirus eine Immunisation gegen Geflügelpocken zu erzielen, lag es weiterhin auf der Hand, auch in umgekehrter Weise zu Werke zu gehen und zu untersuchen, ob Hühner, die von Geflügelpocken genesen sind und dementsprechend dagegen immun sind, auch eine Immunität gegen das Vakzinevirus besitzen.

Am 20. Okt. 1915 wurden 10 Hühner intramuskulär mit Geflügelpocken infiziert (große Dosis). Am 10. Okt. 1915 wurden sie aufs neue intramuskulär mit einer großen Dosis Geflügelpockenvirus geimpft. Als Resultat der Impfung sah man bei einigen Tieren kleine Pocken auf dem Kamm auftreten.

Aus früheren Versuchen hatte sich ergeben, daß man nach einer derartigen Impfung Immunität gegen das Geflügelpockenvirus erwarten kann.

Am 30. Okt. 1915 wurden die 10 geimpften Versuchshühner nebst 5 Kontrolltieren mit Vakzinevirus energisch auf dem Kamm eingerieben.

Resultat: Sämtliche Tiere reagierten. Ein Unterschied in der Reaktion zwischen den Geflügelpocken- und den Kontrollhühnern war nicht wahrzunehmen.

Ist das Virus der Geflügelpocken identisch mit dem der Stomatitis pustulosa contagiosa equi.

Bevor wir auf diese Frage näher eingehen, empfiehlt es sich, einige Betrachtungen vorauszuschicken.

1) In dem Handbuch von Kolle und Wassermann 1913 findet man von Tomarkin und Carrière (30) die Angabe, daß nach den 1896 angestellten Untersuchungen Bassis die Stomatitis pustulosa der Pferde eine Variolainfektion sein solle, identisch sei mit der Vakzine, was durch Impfung bei Kälbern und von diesen Tieren aus bei Kindern bewiesen wurde. 1914—1915 wurden die Befunde Bassis durch die Untersuchungen de Jongs (32, 33) bestätigt. Man muß also annehmen, daß das Virus der Stomatitis pustulosa contagiosa des Pferdes identisch ist mit dem des Kuhpockenimpfstoffes (Vakzine).

2) Durch meine eigenen Versuche war ich geneigt, eine sehr enge Verwandtschaft zwischen dem Virus der Geflügelpocken und dem der Vakzine anzunehmen.

3) Wenn meine Vermutung richtig war, dann folgt unmittelbar daraus, daß auch eine sehr enge Verwandtschaft zwischen dem Virus der Stomatitis pustulosa contagiosa und dem der Geflügelpocken bestehen müßte.

4) 1879 gelang es Friedberger (34), mit Stomatitis-Material des Pferdes beim Huhn einen Pockenausschlag hervorzurufen. Es war deshalb von größtem Interesse, zu untersuchen, ob das Virus der Geflügelpocken imstande sei, eine Stomatitis pustulosa beim Pferde hervorzurufen.

Am 15. Mai 1915 wurden 3 Pferde mit frischem Geflügelpockenmaterial behandelt. Die Schleimhaut der Oberlippe wurde zuvor mit einem Stückchen feinen Sandpapiers äußerst wenig gereizt. Dieses hatte eine leichte Hyperämie zur Folge. Dann wurde das in 50-proz. Glyzerin feingeriebene Geflügelpockenmaterial mit einem kleinen Wattebausch eingerieben. 3 Kontrollpferde wurden in völlig gleicher Weise behandelt, nur mit dem Unterschiede, daß sie anstatt mit Geflügelpocken mit Exsudatborken von Hühnern eingerieben wurden.

Diese Exsudatborken wurden folgendermaßen erhalten: Der Kamm eines Huhnes wurde gehörig mit Sandpapier gereizt. Die dadurch entstandene Wundfläche war dann nach 1—2 Tagen mit einer Borke bedeckt. Diese wurde nach einigen Tagen abgekratzt und, nachdem sie mit 50-proz. Glyzerin feingerieben war, wurde sie auf die Mundschleimhaut der Kontrollpferde gebracht.

Diesem Verfahren lag folgender Gedankengang zugrunde: Man kann annehmen, daß beim Huhn eine eigene Bakterienflora gedeiht. Diese Bakterien sind also mit dem Geflügelpockenmaterial gemischt und würden eventuell auf der Mundschleimhaut des Pferdes Reaktionen verursachen können, die man unberechtigterweise dem Pockenvirus zuschreiben würde. Es war anzunehmen, daß die gleiche Bakterienflora auch in den Exsudatborken nach einigen Tagen vorhanden war.

Wenn sich also ein Unterschied in der Reaktion zeigte bei den Geflügelpockenpferden einerseits und bei den Kontrollpferden andererseits, dann konnte man diesen Unterschied mit großer Wahrscheinlichkeit auf das Konto des Geflügelpockenvirus setzen.

Der Verlauf dieses Experimentes war folgendermaßen:

Die Kontrollpferde zeigten, abgesehen von einer geringen Hyperhämie, die durch die Reizung mittels des Sandpapieres verursacht war absolut nichts.

Ganz anders war dieses aber bei den Geflügelpockenpferden.

Auch hier sah man am folgenden Tage eine geringe Hyperämie, doch damit war der Prozeß nicht abgelaufen. Nach 3—4 oder 5 Tagen sah man, wie die Follikel der Schleimhaut anschwollen. Es bildeten sich Bläschen, die Hyperämie und gleichzeitig die Empfindlichkeit der Schleimhaut nahmen zu. Speichelfluß war vorhanden. Der Inhalt der Bläschen, der zuerst vollkommen klar war, vereiterte, eine Einbuße an Substanz fand statt, und sehr bald war eine große Anzahl größerer und kleinerer Geschwüre auf der Schleimhaut vorhanden. Es fand ein Zusammenfließen kleiner Ulcera zu größeren statt, und das ganze Bild zeigte eine sehr große Uebereinstimmung mit der gewöhnlichen Stomatitis pustulosa contagiosa, wie wir diese aus der Praxis kennen. Nachdem die Ulcera sich gereinigt hatten, trat eine allmähliche Besserung ein. Unter Hinterlassung kleiner Narben war der ganze Prozeß in 10 bis 14 Tagen abgelaufen. Geringe Fiebererscheinungen (38,7—38,9° C) wurden bei allen 3 Pferden beobachtet. Dieser Versuch wurde am 14. Juni 1915 noch einmal bei 4 Pferden wiederholt, gleichfalls mit demselben positiven Resultat.

Schlußfolgerung: Das Geflügelpockenvirus ist imstande, beim Pferde eine Stomatitis pustulosa hervorzurufen, die eine sehr große Aehnlichkeit besitzt mit der Stomatitis pustulosa contagiosa equi. Beide Virusarten sind filtrierbar, das erstere ist dem Vakzinevirus nahe verwandt, das letztere ist mit demselben identisch. Eine nahe Verwandtschaft zwischen dem Virus der Geflügelpocken und dem der Stomatitis pustulosa contagiosa equi ist auf Grund dieser Tatsachen sehr wahrscheinlich.

Schlußfolgerungen.

Die verschiedenen Punkte lassen sich folgendermaßen formulieren[1]:

1) Die übergroße Mehrzahl der Fälle von Hühnerdiphtherie wird durch das Geflügelpockenvirus verursacht.

2) Es ist sehr gut möglich, daß der Micrococcus von Bordet und Fally die Ursache der Geflügelpocken ist.

3) Die Existenz einer selbständigen Vogeldiphtherie mit einer eigenen spezifischen Ursache (z. B. dem Bazillus von Klebs-Loeffler) kann vorläufig noch nicht geleugnet werden.

4) Das Geflügelpockenvirus ist nicht nur durch Berkefeld-Kerzen filtrierbar, sondern es ist nicht ausgeschlos-

---

[1] Die gesperrt gedruckten Schlußfolgerungen sind aus eigenen Untersuchungen gezogen.

sen, daß auch Chamberland B- und F-Filter das Virus hindurchlassen.

5) Das Geflügelpockenvirus ist wahrscheinlich phylogenetisch nahe verwandt mit dem Virus der Stomatitis pustulosa contagiosa des Pferdes.

6) Wenn es auch noch nicht feststeht, daß das Virus der Vakzine identisch ist mit dem der Geflügelpocken, so besteht doch eine sehr nahe Verwandtschaft zwischen beiden.

Für diese Behauptung lassen sich folgende Tatsachen anführen: a) Beide Virusarten besitzen eine Affinität zur Haut. b) Ein lokaler Prozeß erzeugt bei beiden eine allgemeine Immunität. c) Beide Virusarten stimmen überein hinsichtlich ihrer Konservierung in Glyzerin. d) Beide Virusarten gleichen einander morphologisch. e) Beide Virusarten besitzen die gleiche Empfindlichkeit gegen Kaninchengalle. f) Man kann mit Geflügelpockenvirus bei Säugetieren Pocken hervorrufen. g) Man kann mit dem Vakzinevirus bei Hühnern Pocken hervorrufen. h) Man kann mit Geflügelpockenvirus ebenso wie mit der Vakzine bei Pferden eine Stomatitis pustulosa erzeugen. i) Man kann mit dem Vakzinevirus bei Hühnern eine lokale Immunität gegen Geflügelpocken erzeugen. j) Kaninchenpassage steigert die Virulenz des Geflügelpockenvirus für das Kalb, ebenso wie sie dieses auch beim Vakzinevirus bewirkt. k) Man kann mit dem Virus der Stomatitis pustulosa contagiosa des Pferdes bei Kindern Pocken hervorrufen. l) Die Zelleinschlüsse, welche bei Geflügelpocken gefunden werden, stimmen mit denen überein, welche durch das Vakzinevirus zum Vorschein gerufen werden. m) Man kann mit dem Virus der Taube beim Huhn Pockeneruptionen erzeugen, die vollständig mit denen übereinstimmen, wie sie das Vakzinevirus bei dieser Tierart hervorruft.

Zum Schluß möchte ich gerne die Gelegenheit benutzen, auch an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank auszusprechen den Herren Prof. Dr. D. A. de Jong und Prof. Dr. L. de Blieck, welche mir Gelegenheit gaben, diesen Gegenstand zu bearbeiten, wie auch den Herren Dr. G. Hioolen, Dr. D. K. Koetser und G. C. F. Rombouts, bzgl. Direktoren der Kuhpocken-Impfstoffinstitute in Rotterdam, Amsterdam und Maastricht, für die große Bereitwilligkeit, mit der sie mir stets Vakzine für meine Versuche zur Verfügung stellten.

Nachdruck verboten.

Ueber den Einfluss spezifischer Sera auf die Flagellatenstadien von Kulturamöben.

[Aus der Bakteriologischen Abteilung des Reichsgesundheitsamts
(Direktor: Geh. Regierungsrat Prof. Dr. L. Haendel).]

Von Dr. **W. von Schuckmann,**
Ständigem Mitarbeiter im Reichsgesundheitsamt.

In einer demnächst an anderer Stelle erscheinenden Arbeit (9) habe ich ausführlich die Ergebnisse eingehender Untersuchungen über das serologische Verhalten verschiedener Amöbenstämme geschildert[1]). Die Fortsetzung dieser Untersuchungen hat nun in mehrfacher Hinsicht zu einer Bestätigung und Erweiterung meiner in der betreffenden Arbeit niedergelegten Befunde geführt, worüber ich im folgenden kurz berichten will:

Zunächst gelang es mir, an einer Anzahl aus Heu-, Stroh- und Moosaufgüssen frisch isolierter und auf Agarplatten in „gemischter Reinkultur“ gezüchteter Amöbenstämme zu bestätigen, daß es möglich ist, mit Hilfe spezifischer Amöben-Immunsera die Artgleichheit resp. Verschiedenheit von Amöbenstämmen festzustellen.

So züchtete ich neuerdings aus einem Heu- und einem Moosaufguß 2 Amöbenstämme (H VII und M III), deren serologisches Verhalten mit dem meiner beiden älteren Amöbenstämme H II und H IV durchaus übereinstimmt. Da die weitere Untersuchung ergab, daß die beiden Stämme auch in morphologischer und kultureller Hinsicht den Stämmen H II und H IV gleichen, so dürfte der Schluß berechtigt sein, daß die von mir als H VII und M III bezeichneten Amöbenstämme der gleichen Art angehören, wie die Stämme H II und H IV, deren Zugehörigkeit zu der gleichen Art bereits früher auf Grund ihres serologischen, morphologischen und kulturellen Verhaltens nachgewiesen werden konnte (9, S. 158). Auch bei 2 zur Flagellatenbildung befähigten Amöbenstämmen (H VI und St II), die ich frisch aus einem Heu- und einem Strohaufguß isolierte, gelang mir mit Hilfe von Amöben-Immunserum die Identifizierung mit einem meiner schon seit längerer Zeit auf Agarplatten gezüchteten, ebenfalls Flagellaten bildenden Amöbenstamm (M I), der einem Moosaufguß entstammte. Die serologische Untersuchung der beiden neuen Stämme ergab nämlich, daß beide von dem meinem Amöbenstamm M I homologen Immunserum, das einen Agglutinationstiter von $^1/_{3200}$ besitzt, bis zu einer Verdünnung von $^1/_{2000}$ deutlich agglutiniert werden, während in den dem Stamm M I heterologen Immunseren, sowie in Kaninchen-Normalserum auch in den stärksten Konzentrationen eine Agglutination der Amöben nicht beobachtet wurde. Auch die von den beiden neuen Stämmen gebildeten Flagellaten werden von dem M I-Immunserum in der gleichen charakteristischen, am Schluß meiner ausführlichen Arbeit kurz geschilderten Weise spezifisch beeinflußt wie die von dem Stamm M I gebildeten Flagellaten; es wird darauf noch weiter unten des näheren zurückzukommen sein. Da auch in morphologischer und kultureller Hinsicht zwischen den 3 Stämmen M I, H VI und St II Uebereinstimmung festgestellt werden konnte, so dürfte auch ohne das bisher zur sicheren Identifizierung von Amöbenstämmen nötige genaue Studium der Kernteilung ein Zweifel an der Artgleichheit der 3 Stämme nicht mehr bestehen.

---

[1]) Eine erst nach beendeter Drucklegung meiner oben erwähnten Arbeit mir bekannt gewordene Veröffentlichung (A. W. Allards, Immunity Reactions with Amoebae, Philippine Journ. Science. Ser. B. Vol. 6. 1911) enthält Angaben über eine mäßig starke zytolytische Wirkung spezifischer Amöben-Immunsera; mit den gleichen Seren angestellte Agglutinations- und Präzipitationsversuche führten dagegen zu negativen Ergebnissen.

Es läßt sich also in der Tat, wie aus den von mir gemachten Beobachtungen wohl zur Genüge hervorgeht, ähnlich wie bei den in der Bakteriologie gebräuchlichen Untersuchungsmethoden, mit Hilfe serologischer Reaktionen, unter Berücksichtigung morphologischer, biologischer und kultureller Momente, leichter und schneller die Artgleichheit resp. Verschiedenheit von Amöbenstämmen feststellen, als das bisher mittels der Untersuchung des vollständigen Entwicklungskreises der Amöben möglich war. Mit Hilfe dieser vereinfachten Methode der Amöbendifferenzierung wird es vielleicht in Zukunft möglich sein, das System der Amöben, das durch Aufstellung einer sehr großen Zahl von Arten äußerst kompliziert geworden ist, wesentlich zu vereinfachen und über die Verwandtschaft der verschiedenen Amöbenarten untereinander Klarheit zu erlangen. Wie ferner aus meinen Untersuchungsergebnissen hervorgeht, gelingt auch die Feststellung der Häufigkeit einer bestimmten Amöbenart in einer bestimmten Gegend mit Hilfe serologischer Reaktionen verhältnismäßig leicht und schnell: Wenn ich die zu Beginn meiner Untersuchungen von mir isolierten, untereinander verschiedenen Amöbenstämme H I, H II und M I als „Typen“ annehme, so konnte ich bisher, wie sich mit Hilfe serologischer Reaktionen feststellen ließ, den „Typus“ H I nur 1mal, den „Typus“ H II 4mal und den „Typus“ M I 3mal aus verschiedenen Aufgüssen isolieren, woraus sich leicht Schlüsse auf das mehr oder weniger häufige Vorkommen der verschiedenen Amöbenarten ziehen lassen.

Nachdem ich im Laufe meiner Untersuchungen hatte feststellen können, daß die von mir gezüchteten Amöbenstämme durch das ihnen homologe Immunserum in charakteristischer Weise spezifisch beeinflußt werden, ergab sich für mich die Frage, ob auch die von mehreren meiner Amöbenstämme gebildeten Flagellatenstadien durch das den betreffenden Amöben homologe Immunserum sich ebenfalls in irgendeiner Weise spezifisch beeinflussen ließen. Ehe ich jedoch die zur Beantwortung dieser Frage von mir angestellten Versuche schildere, will ich zunächst etwas näher auf die äußeren Bedingungen eingehen, unter denen eine Umwandlung gewisser Amöbenarten in Flagellaten stattfindet.

Die interessante Tatsache, daß eine ganze Anzahl von Amöbenarten die Fähigkeit besitzt, unter bestimmtsn Umständen Geißeln zu bilden, längere oder kürzere Zeit im Flagellatenzustand zu leben, und dann wieder in den Amöbenzustand zurückzukehren, ist bereits mehrfach von verschiedenen Autoren beobachtet und beschrieben worden:

Prowazek (6) schildert allerdings nur die Umwandlung 2-geißeliger Flagellaten, die er in 24 Std. alten Objektträger-Kulturen aus Sumpfwasser fand, in kleine Amöben. Dagegen gibt **Schardinger** (8) eine sehr ausführliche und anschauliche Beschreibung der „Entwicklung eines flagellatenartigen Schwärmers“ aus der von ihm aus diarrhöischem Stuhl isolierten, in Schrägagarröhrchen gezüchteten und als Amoeba Gruberi bezeichneten Amöbe, sowie der Rückbildung der Flagellaten in das Amöbenstadium. Die Umwandlung der Amöben in Flagellaten erfolgte nach Schardingers Angaben regelmäßig dann, wenn die Amöben von der Schrägagar-Oberfläche in Wasser übertragen und bei Temperaturen zwischen 15 und 34° C aufbewahrt wurden. Bei etwa 30—34° C begann die Umwandlung, deren Verlauf sich mit Abnahme der Temperatur verlangsamte, etwa 70 Min. nachdem die Amöben in Wasser übertragen worden waren, und weitere 10—15 Min. später befanden sich ca. 90 Proz. der vorhanden gewesenen Amöben im Flagellatenzustand. Bei Temperaturen über 34° C trat eine Flagellatenbildung nur vereinzelt oder gar nicht auf. Von Einfluß auf die Schnelligkeit der Umwandlung war, nach den Beobachtungen Schardingers, nicht nur die Temperatur, sondern auch die Menge der den Amöben zur Verfügung stehenden Nahrungsbakterien, und zwar insofern, als die Umwandlung der Amöben in Flagellaten um so schneller erfolgte, je geringer die Menge der vorhandenen Nahrungsbakterien war. Ließ Schardinger nicht, wie er es gewöhnlich tat, die Umwandlung im „hängenden Tropfen“, sondern „im Großen, z. B. in einem Uhrschälchen mit sterilem Wasser in feuchter Kammer oder in Eprouvetten“ vor sich gehen, so „waren in letzteren noch nach 7 Tagen Schwärmer anzutreffen“. Von Einflüssen, unter welchen eine Rückverwandlung der Flagellaten in Amöben stattfand, nennt Schardinger als die hauptsächlichsten: 1) Einwirkung höherer Temperatur, über 34° C; 2) intensive Belichtung; 3) Behinderung in der freien Beweglichkeit und 4) Zufuhr frischer Nahrungsstoffe. Darüber, ob auch ohne Einwirkung eines dieser Einflüsse eine Rückbildung der Flagellaten in Amöben stattfand, macht Schardinger keine Angaben. Dagegen konnte er beobachten, daß Flagellaten, die sich bei einer Temperatur von 36° C in Amöben rückverwandelt hatten, bei Zimmertemperatur wieder in den Flagellatenzustand übergingen. Eine Fortpflanzung der Flagellaten durch Teilung konnte Schardinger nicht feststellen, doch zieht er aus gewissen Tatsachen den Schluß, daß eine solche möglich sein müsse. Den Vorgang der Umbildung von Amöben in Flagellaten faßt er als „eine Anpassung an geänderte, resp. erschwerte Lebensbedingungen“ auf.

Auch v. Wasielewski und Hirschfeld (10 u. 11) konnten die Umwandlung ihrer aus Stroh- resp. Lohaufgüssen isolierten und auf Agarplatten gezüchteten Amöben in geißeltragende „Schwimmformen“ beobachten, und zwar trat diese Umwandlung bei Parallelversuchen mit Salzlösungen der Pauli-Hofmeisterschen Reihe (Natriumchlorid, Natriumnitrat, Natriumbromid, Natriumjodid, Natriumrhodanat, sowie dieselben Verbindungen von Kalium und Ammonium) in einer $^1/_{16}$-Normallösung nach etwa $2^1/_2$ Std. ein. In der gleichen Zeit erfolgte die Bildung von „Schwimmformen“ auch in dem der genannten optimalen Verdünnung entsprechenden Heidelberger Leitungswasser, langsamer dagegen in destilliertem Wasser und kleinen Flüssigkeitsansammlungen auf dem Agar. Von Einfluß auf die Umwandlungsfähigkeit der Amöben ist nach den Beobachtungen der genannten Autoren das Entwicklungsstadium, in welchem die Amöben sich gerade befinden, und zwar insofern, als „vor allem die Wuchs- und Vermehrungsformen zur Geißelbildung zu neigen scheinen, während diejenigen Kriechformen, deren Einkapselung bevorsteht, hierzu nicht mehr imstande sind“; Amöben, welche eben erst die Zystenhülle verlassen haben, sind erst nach 48 Std. zur Bildung von Schwimmformen disponiert. Eine Rückverwandlung der Flagellaten in Amöben fand bei den von v. Wasielewski und Hirschfeld angestellten Versuchen teils schon nach etwa 6—10 Std., teils aber auch erst nach 2 bis 3 Tagen statt. Teilung der Flagellatenstadien konnte nicht beobachtet werden.

Außer von den bisher genannten Autoren wurde die Umwandlung von Amöben in Flagellaten, resp. die Rückverwandlung der letzteren in Amöben, von Alexeieff (1, 2 u. 3), Martin und Lewin (4), v. Wasielewski und Kühn (12), Wherry (13), und Whitmore (14) beobachtet und mehr oder weniger ausführlich beschrieben. Auf die gegenseitigen Beziehungen zwischen Flagellaten und Rhizopoden geht eine Arbeit von Pascher (5) näher ein, in welcher der Versuch gemacht wird, die Rhizopoden zwar nicht in ihrer Gesamtheit, aber doch zum größten Teil von den Flagellaten abzuleiten, indem sie als „rhizopodial gewordene Seitenglieder der Flagellatenreihen mit einer allerdings sehr weit vorgeschrittenen Sonderentwicklung“ aufgefaßt werden.

Bei den von mir mit Amöben angestellten serologischen Versuchen untersuchte ich die sämtlichen aus Heu-, Stroh-, Moos- und Erdaufgüssen isolierten Amöbenstämme unter anderem auch auf ihre Fähigkeit zur Flagellatenbildung. Ich bediente mich zu diesem Zweck, wie schon Schardinger (8), des mit Leitungswasser hergestellten „hängenden Tropfens“ und konnte mit Hilfe dieses Verfahrens zunächst bei 2 von meinen Amöbenstämmen (M I und H V) die Fähigkeit zur Bildung von zweigeißeligen „Schwimmformen“ feststellen. Bei beiden Stämmen, von denen der eine (M I) aus einem Moosaufguß, der andere (H V) aus einem Heuaufguß isoliert worden war, trat die Umwandlung der Amöben in Flagellaten bei Zimmertemperatur regelmäßig etwa $1^3/_4$—2 Std., nachdem die Amöben in Leitungswasser übertragen worden waren, ein; ein Teil der Amöben ließ dann an dem bei der amöboiden Bewegung nach hinten gerichteten Ende, an dem auch die kontraktile Vakuole lag, 2 langsam und unregelmäßig schlagende, ziemlich lange Geißeln erkennen. Kurze Zeit darauf kugelten die mit Geißeln versehenen Amöben sich ab und begannen, lebhaft um ihre eigene Achse zu rotieren. Allmählich nahmen sie eine gestreckte, zum Teil birnförmige Gestalt an und schwammen schließlich in der für Flagellaten charakteristischen „taumelnden“ Weise davon, wobei das die Geißeln tragende und den Kern enthaltende Körperende nach vorn gerichtet war, während die kontraktile Vakuole auch bei den Schwimmformen am Hinterende lag. Bei der Umwandlung der Amöben in Flagellaten wird also das Hinterende der Amöbe zum Vorderende des Flagellaten, die kontraktile Vakuole aber macht augenscheinlich innerhalb des Protoplasmas eine Verlagerung um etwa 180° durch, da sie ja sowohl in der Amöbe als auch im Flagellaten am Hinterende liegt. Unter Umständen konnte ich übrigens auch beobachten, daß die kontraktile Vakuole fast allen oder doch den meisten in einem „hängenden Tropfen" vorhandenen Amöben resp. Flagellaten fehlte; augenscheinlich spielt, wie das auch schon von Zuelzer (15) nachgewiesen worden ist, die Salzkonzentration der die Protozoen enthaltenden Flüssigkeit bei diesem Verschwinden der kontraktilen Vakuole eine Rolle. In destilliertem Wasser erfolgte die Flagellatenbildung meist etwas langsamer als in Leitungswasser. In Kochsalzlösung fand eine Umwandlung der Amöben in Flagellaten in der Regel nur dann statt, wenn die Kochsalzkonzentration 0,75 Proz. nicht überschritt; zuweilen unterblieb sie auch schon in 0,6-proz. Kochsalzlösung, während sie in 0,3-proz. Kochsalzlösung stets zustande kam. Ich benutzte deshalb bei meinen serologischen Versuchen mit den von Amöben gebildeten Flagellatenstadien zur Serumverdünnung statt der gewöhnlichen 0,85-proz. physiologischen Kochsalzlösung eine solche von nur 0,3 Proz. Kochsalzgehalt, welche einerseits auf die Flagellatenbildung und die Flagellaten selbst eine schädigende Wirkung nicht ausübte, andererseits aber auch eine eventuell eintretende spezifische Einwirkung des Immunserums auf die Flagellaten und ihre Bildung nicht wesentlich beeinträchtigte, während eine 0,85-proz. Kochsalzlösung nicht nur die Flagellatenbildung in der Regel vollständig unterdrückte, sondern auch häufig schon ohne Serumzusatz das Aussehen und die Beweglichkeit der Flagellaten schädlich beeinflußte. Eine Verlangsamung oder gar vollständige Unterdrückung der Flagellatenbildung durch reichlich vorhandene Bakteriennahrung, wie Schardinger (8) sie erwähnt, konnte ich nicht beobachten. Dagegen machte sich ein Einfluß der Temperatur auf die Flagellatenbildung auch bei meinen Versuchen insofern geltend, als bei etwa 8° C die Umwandlung der Amöben in Flagellaten wesentlich langsamer, bei etwa 32° C dagegen schneller erfolgte als bei Zimmertemperatur. Bei 37° C fand eine Flagellatenbildung überhaupt nicht mehr statt. Auch die Rückbildung der Flagellaten in Amöben ging bei 32° C schneller als bei Zimmertemperatur vor sich, während sie bei 8° C stark verlangsamt war.

Meine Versuche zur Feststellung des Einflusses spezifischer Sera auf die Flagellatenstadien von Kulturamöben und ihre Entstehung wurden, um etwaige Temperatureinflüsse auf die zu untersuchenden Vorgänge auszuschließen, durchweg bei Zimmertemperatur angestellt. Um die für diese Versuche nötigen Flagellatenstadien in größeren Mengen zu erhalten, schwemmte ich geeignete, d. h. noch nicht ganz bis zum Rand von den Amöben überwucherte Kulturplatten mit jeweils 3 ccm Leitungswasser ab und ließ die so erhaltene Amöben-Bakterienaufschwemmung bei Zimmertemperatur stehen. War dann nach 2—$2^1/_2$ Std. reichliche Flagellatenbildung in der Aufschwemmung eingetreten, so vermischte ich mit der Platinöse auf einem Deckglas einen Tropfen der Flagellatenaufschwemmung mit der gleichen Menge fallender Verdünnungen von verschiedenen Immunseren und von Normalserum, zu deren Herstellung aus den oben erwähnten Gründen 0,3-proz. Kochsalzlösung verwandt wurde. Da die Konzentration der von mir der Flagellatenaufschwemmung zugesetzten Serumverdünnungen $^1/_{50}$, $^1/_{100}$, $^1/_{200}$ etc. betrug, so wiesen nach Vermischung mit der Flagellatenaufschwemmung die Sera eine Verdünnung von $^1/_{100}$, $^1/_{200}$, $^1/_{400}$ etc. bis zur Agglutinations-Titergrenze des jeweils zur Verwendung gelangenden Immunserums auf. Die mit Flagellatenaufschwemmung und Serumverdünnung beschickten Deckgläser brachte ich sodann auf einen mit Vaseline umrandeten, hohlgeschliffenen Objektträger und beobachtete in dem so gewonnenen „hängenden Tropfen" die Wirkung der Sera auf die Flagellaten, wobei ich zu folgenden Ergebnissen kam:

In den Verdünnungen $^1/_{100}$, $^1/_{200}$ und häufig auch $^1/_{400}$ des dem Amöbenstamm, aus dem die Flagellaten hervorgegangen waren, homologen Immunserums trat sofort nach Zusatz des Serums eine vollständige Lähmung aller in dem „hängenden Tropfen“ vorhandenen Flagellaten und eine deutliche Agglutination der unbeweglich gewordenen Flagellaten ein, die durch langsames Hin- und Herschaukeln des Präparates noch verstärkt werden konnte. Während nun die meisten der gelähmten Flagellaten zunächst noch ihre regelmäßige, gestreckte Körperform behielten und träge Bewegungen der Geißeln erkennen ließen, die aber nicht mehr zur Fortbewegung der Flagellatenzelle ausreichten, zeigten einige Flagellaten schon sehr bald Anzeichen für eine beginnende Rückverwandlung in die Amöbenform, indem an ihrer Oberfläche hie und da kleine Buckel hyalinen Plasmas sich vorwölbten, die allmählich zu deutlichen Pseudopodien wurden; schließlich trat an einer Stelle ein größeres Pseudopodium auf, und die nunmehr wieder zur Amöbe gewordene Zelle begann in der Richtung dieses Pseudopodiums sich fortzubewegen, wobei an ihrem „Hinterende“ noch die beiden langsam und unregelmäßig schlagenden Geißeln sichtbar waren. Bald verschwanden aber auch diese, und zwar, wie durch direkte Beobachtung an lebenden Amöben festgestellt werden konnte, nicht durch Abstoßung, sondern durch „Einschmelzung“ in das Protoplasma der Zelle, und damit war aus dem 2-geißeligen Flagellaten wieder eine durchaus normale Amöbe geworden. Dieser Rückverwandlungsprozeß setzte in der Regel unmittelbar oder doch nur wenige Minuten nach erfolgter Lähmung der Flagellaten ein und nahm selbst nur einige Minuten in Anspruch, so daß etwa 20—30 Min. nach Zusatz des Serums alle oder doch die meisten vorhanden gewesenen Flagellaten sich wieder in Amöben rückverwandelt hatten. Durch den Agglutinationsvorgang wurde die Rückbildung der Flagellaten nicht gestört; auch bei den zu umfangreichen Klumpen zusammengeballten Flagellaten setzte die Umbildung in Amöben in der gleichen Weise ein wie bei den einzeln liegenden Flagellaten. Die rückverwandelten Amöben krochen dann aber in der in meiner ausführlichen Arbeit (9) genauer beschriebenen Weise auseinander, so daß nach einiger Zeit eine Agglutination nicht mehr zu erkennen war. War die Konzentration des Immunserums in dem „hängenden Tropfen“ geringer als $^1/_{400}$, so wurde zunächst nur ein Teil der Flagellaten gelähmt, agglutiniert und binnen kurzer Zeit in Amöben rückverwandelt und mit weiterer Abnahme der Serumkonzentration blieb ein immer mehr zunehmender Teil der Flagellaten unbeeinflußt, bis schließlich eine Einwirkung des homologen Immunserums auf die Flagellaten überhaupt nicht mehr erkennbar war.

In der oben geschilderten Weise beeinflußte das mit dem Amöbenstamm H V hergestellte Immunserum nur die von dem gleichen Amöbenstamm gebildeten Flagellaten. Dagegen wurden von dem mit M I-Amöben hergestellten Immunserum nicht nur die von denselben Amöben gebildeten Flagellaten, sondern auch die durch Umwandlung der Amöbenstämme H VI und St II entstandenen Schwimmformen gelähmt, agglutiniert und zu beschleunigter Rückverwandlung in das Amöbenstadium veranlaßt. Auf diese interessante Tatsache wird am Schluß dieser Arbeit noch zurückzukommen sein.

Wurde dem die Flagellaten enthaltenden Wassertropfen heterologes Immunserum oder normales Kaninchenserum in den gleichen Verdünnungen zugesetzt, so ließen die Flagellaten in der Regel weder sofort noch später irgendwelche Beeinflussung durch das Serum erkennen, sondern fuhren fort, in durchaus normaler Weise lebhaft umherzuschwimmen, ohne Anzeichen einer Lähmung oder Agglutination zu zeigen. Eine Rückverwandlung in Amöben fand allerdings auch in solchen Präparaten statt, doch setzte dieselbe erst nach längerer Zeit, meist erst nach etwa 2—3 Std., ein und ging so allmählich vor sich, daß in der Regel auch nach 20—24 Std. noch eine größere Anzahl von Flagellaten in den betreffenden Präparaten vorhanden war und erst nach 2—3 Tagen alle in den „hängenden Tropfen" vorhanden gewesenen Flagellaten wieder Amöbenform angenommen hatten. In gleicher Weise erfolgte die Rückverwandlung der Flagellaten in Amöben aber auch ohne Zusatz von Serum zu dem sie enthaltenden Wassertropfen. Nur ganz selten war bei Zusatz der höheren Konzentrationen des heterologen Immunserums gegenüber den Kontrollpräparaten eine geringe Beschleunigung des Rückverwandlungsvorganges, niemals jedoch eine Lähmung oder Agglutination der Flagellaten zu beobachten.

Das Eintreten einer Lähmung von Protozoen durch ein ihnen homologes Immunserum hat schon Roeßle (7) bei 2 Ziliatenarten (Paramaecium caudatum und Glaucoma scintillans) beschrieben und als spezifische Wirkung des betreffenden Immunserums gedeutet, während er eine typische Agglutination der betreffenden Ziliaten nicht beobachten konnte. Bei den von mir geschilderten Versuchen trat dagegen bei Zusatz des den Flagellaten resp. dem betreffenden Amöbenstamm homologen Immunserums außer der sofortigen Lähmung auch eine der Bakterienagglutination vergleichbare deutliche Zusammenballung der Flagellaten in Erscheinung, während außerdem gleichzeitig eine beschleunigte Rückverwandlung der Flagellaten in das Amöbenstadium einsetzte. Ebenso wie die Lähmung und die Agglutination der Flagellaten, dürfte wohl auch ihre beschleunigte Rückverwandlung in Amöben als eine spezifische Wirkung des homologen Immunserums aufzufassen sein, da die genannten 3 Reaktionen ausschließlich durch homologes Immunserum hervorgerufen werden. Der Umstand, daß ein einem flagellatenbildenden Amöbenstamm homologes Immunserum imstande ist, nicht nur, wie ich es in meiner ausführlichen Arbeit (9) geschildert habe, die betreffenden Amöben, sondern auch die aus ihnen hervorgehenden Flagellatenstadien zu agglutinieren, deutet darauf hin, daß hinsichtlich der Agglutination bei den Amöben- und Flagellatenstadien des betreffenden Stammes der Rezeptorenapparat im wesentlichen der gleiche ist, daß also die bei der Umwandlung der Amöben in Flagellaten stattfindenden Veränderungen wohl hauptsächlich morphologischer Natur sind. Vielleicht wird es durch eingehendes Studium der durch das homologe Immunserum hervorgerufenen raschen Rückbildung der Flagellaten in das Amöbenstadium möglich sein, einen genaueren Einblick in das Wesen dieser Umwandlungsvorgänge zu erlangen, zumal es mir gelungen ist, auch umgekehrt eine Hemmung resp. völlige Unterdrückung der Flagellatenbildung unter dem Einfluß des homologen Immunserums festzustellen.

Im Verlauf der von mir mit flagellatenbildenden Amöbenstämmen angestellten serologischen Versuche hatte ich mehrfach die Beobachtung gemacht, daß nicht nur in destilliertem und Leitungswasser, sowie in Kochsalzlösung von bestimmter Konzentration (s. o. S. 307) eine Umwandlung der Amöben in Flagellaten eintritt, sondern daß eine solche unter Umständen auch in bestimmten Serumverdünnungen, allerdings meist in mehr oder weniger verlangsamtem Tempo, stattfinden kann. Diese Beobachtung veranlaßte mich, auch den Einfluß von Normalserum und verschiedenen Immunseren auf die Umbildung der Amöben in Flagellaten etwas eingehender zu untersuchen, wobei ich folgendermaßen verfuhr: Von dem der betreffenden Amöbenart homologen Immunserum wurden mit 0,3-proz. Kochsalzlösung verschiedene Verdünnungen hergestellt und zu „hängenden Tropfen“ verarbeitet, in welchen die betreffenden flagellatenbildenden Amöben mit der Platinöse verrieben worden waren. Die Präparate wurden sodann bei Zimmertemperatur belassen und von Zeit zu Zeit unter dem Mikroskop auf das Vorhandensein von Flagellaten untersucht. In genau gleicher Weise verfuhr ich auch mit Normalserum und verschiedenen dem betreffenden Amöbenstamm heterologen Immunseren. Dabei machte ich nun die Beobachtung, daß schon in den schwächeren Konzentrationen des homologen Immunserums eine auffallende Verlangsamung der Flagellatenbildung eintrat, die mit wachsender Serumkonzentration immer mehr zunahm, bis schließlich in den stärksten Konzentrationen des homologen Immunserums bei den meisten meiner Versuche die Flagellatenbildung völlig ausblieb oder nur noch ganz vereinzelte Flagellaten gefunden wurden. In Normal- und heterologem Immunserum fand dagegen bei den von mir zur Anwendung gebrachten Serumkonzentrationen (s. u.) eine Flagellatenbildung stets in reichlichem Maße statt, wenn sie auch, wie schon erwähnt, in der Regel etwas langsamer erfolgte als in destilliertem und Leitungswasser. Die im homologen Immunserum eintretende Hemmung resp. völlige Unterdrückung der Flagellatenbildung dürfte also wohl ebenfalls als eine spezifische Einwirkung des homologen Immunserums auf die zur Flagellatenbildung befähigten Amöben aufzufassen sein. Die Frage, worauf diese Einwirkung beruht, ob der Kern oder das Protoplasma der Amöben oder beide Zellbestandteile gleichmäßig davon betroffen werden, bedarf zu ihrer Beantwortung noch weiteren genauen, vor allem auch morphologischen Studiums der bei der Flagellatenbildung sich abspielenden Vorgänge. In seltenen Ausnahmefällen

Ta

Amöbenart	Seit Herstellung der Präparate verflossene Zeit	Immunserum Amöbe H V					Immunserum	
		$^1/_{100}$	$^1/_{200}$	$^1/_{400}$	$^1/_{800}$	$^1/_{1000}$	$^1/_{100}$	$^1/_{200}$
a) Kulturamöbenstamm H V	1 Std.	—	—	—	—	—	—	—
	2 „	—	—	—	—	—	—	—
	3 „	—	—	—	—	—	+++	++
	4 „	—	—	+	—	+	++++	+++
		Immunserum Amöbe M I					Immunserum	
b) Kulturamöbenstamm M I	1 Std.	—	—	—	—	—	—	—
	2 „	—	—	—	—	—	++	++
	3 „	+	+	++	++	++	+++	+++
	4 „	++	++	+++	+++	+++	+++	+++
c) Kulturamöbenstamm St II	1 Std.	—	—	—	—	—	—	—
	2 „	+	—	+	+++	++++	+++	++++
	3 „	++	+	++	++++	++++	++++	++++
	4 „	++	+++	+++	++++	++++	++++	++++

Flagellatenbildung dreier verschiedener Kulturamöbenstämme in verschiedenen handen; ++ etwa 50 Proz.; +++ etwa 75 Proz.; ++++ nahezu 100 Proz. aller war die Beeinflussung der Flagellatenbildung durch das homologe Immunserum etwas weniger deutlich. Vielleicht spielt hierbei auch das Entwicklungsstadium, in welchem die zur Verwendung gelangenden Amöben zur Zeit des Versuches sich befinden, eine gewisse Rolle, denn wie bereits oben erwähnt wurde, scheinen, nach den von v. Wasielewski und Hirschfeld (11) gemachten Beobachtungen, die auch ich bestätigen konnte, „vor allem bestimmte Wuchs- und Vermehrungsformen der Amöben besonders stark zur Geißelbildung zu neigen, während andererseits diejenigen Kriechformen, deren Einkapselung bevorsteht, sowie ganz junge Wuchsformen hierzu überhaupt nicht imstande sind“. Wenn daher bei meinen Versuchen Amöben mit einer bestimmten Neigung zur Flagellatenbildung zur Verwendung kamen, so konnte durch das homologe Immunserum diese Neigung unter Umständen völlig unterdrückt werden, während bei Verwendung von Amöben mit stärkerer Neigung zur Flagellatenbildung die letztere durch das angewandte homologe Immunserum nur noch zum Teil unterdrückt oder auch nur mehr oder weniger stark verzögert wurde. Dagegen würde wohl ein stärkeres Immunserum auch in diesem Falle noch eine völlige Unterdrückung der Flagellatenbildung bewirkt haben. Jedenfalls aber konnte auch diese auffallende Hemmung resp. vollständige Unterdrückung der Flagellatenbildung durch das homologe Immunserum bei allen von mir untersuchten flagellatenbildenden Amöbenstämmen deutlich beobachtet werden.

Die Tab. I, in welcher das Verhalten verschiedener Amöbenstämme in verschiedenen Immunseren, sowie in Kaninchennormalserum übersichtlich zusammengestellt worden ist, gibt einige Beispiele für diese mehr oder weniger starke Hemmung der Flagellatenbildung durch homologes Immunserum. Wie aus ihr hervorgeht (a), war bei dem Amöbenstamm H V die Neigung zur Flagellatenbildung augenscheinlich schon

belle I.

Amöbe M I			Kaninchennormalserum					Dest. Wasser	0,3-proz. Kochsalzlösung
$^1/_{400}$	$^1/_{800}$	$^1/_{1000}$	$^1/_{100}$	$^1/_{200}$	$^1/_{400}$	$^1/_{800}$	$^1/_{1000}$		
— + +++ +++	— + ++ +++	— — ++ +++	— + +++ ++++	— + +++ ++++	— + ++++ ++++	— — ++ +++	— + +++ ++++	— ++ +++ ++++	— + ++ +++
Amöbe H V			Kaninchennormalserum					Dest. Wasser	0,3-proz. Kochsalzlösung
— ++ +++ ++++	— +++ ++++ ++++	— +++ ++++ ++++	— +++ ++++ ++++	— +++ +++ +++	— ++++ ++++ ++++	— +++ +++ ++++	— +++ +++ ++++	— +++ ++++ ++++	— ++ +++ ++++
— ++++ ++++ ++++	— ++++ ++++ ++++	— ++++ ++++ ++++	— ++++ ++++ ++++	— ++++ ++++ ++++	— ++++ ++++ ++++	— ++++ ++++ ++++	— ++++ ++++ ++++	— ++++ ++++ ++++	— ++++ ++++ ++++

Seren. Es bedeutet: — keine Flagellaten vorhanden; + nur wenige Flagellaten vor-
im Präparat vorhandenen Amöben in Flagellaten umgewandelt.

von vornherein nicht sehr stark, denn nach Verlauf von 2 Std. waren nur in einigen Präparaten wenige Flagellaten vorhanden. Infolgedessen konnte auch durch die Konzentrationen $^1/_{100}$, $^1/_{200}$ und $^1/_{800}$ des homologen Immunserums die Flagellatenbildung vollständig unterdrückt werden und auch in den Konzentrationen $^1/_{400}$ und $^1/_{1000}$ trat nur spärliche Flagellatenbildung ein, während die Umwandlung in Flagellaten in allen Verdünnungen von heterologem Immunserum (M I-Serum), und Normalserum sowie in destilliertem Wasser und 0,3-proz. Kochsalzlösung nach 3 Std. bereits bei einem großen Teil der in den Präparaten vorhandenen Amöben stattgefunden hatte. Bei dem mit dem Amöbenstamm M I angestellten Versuch (b) war diese Umwandlung der Amöben in Flagellaten im heterologen Immunserum (H V-Serum) und Normalserum, sowie in den Kontrollpräparaten schon nach 2 Std. bei zahlreichen Amöben eingetreten, und entsprechend dieser im Vergleich zu der H V-Amöbe stärkeren Neigung zur Flagellatenbildung trat in allen Verdünnungen des homologen Immunserums nur eine deutliche Verzögerung, jedoch keine vollständige Unterdrückung der Flagellatenbildung ein. Eine noch schwächere, immerhin aber noch deutlich erkennbare Beeinflussung der Flagellatenbildung durch ein Immunserum zeigt der mit dem Amöbenstamm St. II angestellte Versuch (c): Als „homologes“ Immunserum wurde bei diesem Versuch das M I-Serum verwandt, das, wie oben erwähnt, nicht nur die St. II-Amöben bis zu einer Verdünnung von $^1/_{200}$ deutlich agglutiniert, sondern auch eine sofortige Lähmung und Agglutination der von den St. II-Amöben gebildeten Flagellaten und ihre beschleunigte Rückverwandlung in das Amöbenstadium hervorruft. Wie aus dem in der Tab. I c dargestellten Versuch hervorgeht, ist das gleiche Immunserum auch imstande, in den Verdünnungen $^1/_{100}$, $^1/_{200}$ und $^1/_{400}$ eine merkliche Verzögerung der Flagellatenbildung bei den St. II-Amöben eintreten zu lassen, während in den schwächeren Verdünnungen dieses Serums, sowie in allen Verdünnungen des heterologen Immunserums (HV-Serum) und des Normalserums eine derartige Verzögerung gegenüber den Kontrollpräparaten nicht beobachtet werden konnte. Ganz ähnlich liegen die Verhältnisse bei dem Amöbenstamm H VI, dessen Umwandlung in Flagellaten durch das dem Amöbenstamm M I homologe Immunserum merklich verzögert wird.

Es ist mir also, um die Ergebnisse meiner bisherigen Untersuchungen noch einmal kurz zusammenzufassen, der Nachweis folgender Tatsachen gelungen: Das mit meinem Amöbenstamm H V hergestellte Immunserum vermag nicht nur die HV-Amöben zu agglutinieren, sondern es lähmt und agglutiniert auch die von den H V-Amöben gebildeten Flagellaten-Stadien und veranlaßt sie zu beschleunigter Rückverwandlung in das Amöbenstadium; außerdem unterdrückt resp. verzögert es in mehr oder weniger starkem Maße die Umwandlung der H V-Amöben in das Flagellatenstadium. Auf alle übrigen von mir gezüchteten Amöbenstämme, sowie auf die aus denselben eventuell hervorgehenden Flagellatenstadien übt das H V-Immunserum dagegen keinerlei erkennbare Einwirkung aus. Im Gegensatz dazu werden durch das mit dem Amöbenstamm M I hergestellte Immunserum nicht nur die M I-Amöben, sondern auch die beiden ebenfalls flagellatenbildenden Amöbenstämme H VI und St. II agglutiniert, die Flagellatenstadien dieser 3 Stämme werden durch das M I-Immunserum gelähmt, agglutiniert und zu beschleunigter Rückbildung in das Amöbenstadium veranlaßt, und auf die Flagellatenbildung der 3 Stämme übt das gleiche Serum eine merklich verzögernde Einwirkung aus. Der von mir zunächst nur auf Grund der Amöbenagglutination gezogene Schluß (vgl. oben S. 305), daß die Amöbenstämme MI, HVI und St. II artgleich sind, während, wie bereits in meiner ausführlichen Arbeit (9) dargelegt wurde, der Stamm HV einer anderen Art angehört, ist also durch die von mir beobachtete Einwirkung spezifischer Sera auf die Flagellatenstadien der betreffenden Stämme und ihre Bildung bestätigt worden, wodurch ebenfalls bewiesen wird, daß es auch mit Hilfe serologischer Untersuchungen möglich ist, unter entsprechenden Bedingungen die Artgleichheit resp. Verschiedenheit von Protozoen nachzuweisen.

Literaturverzeichnis.

1) **Alexeieff**, A., Sur le stade flagellé dans l'évolution des amibes limax. I. Stade flagellé chez Amoeba punctata Dangeard. (Compt. rend. Soc. Biol. T. 72. 1912. p. 126—128.)

2) — Sur les charactères cytologiques et la systématique des Amibes du groupe Limax (Naegleria n. g. und Hartmannia n. g.), et des Amibes parasites des Vertébrés (Proctamoeba n. g.) (Bull. Soc. Zool. France. T. 37. 1912.)

3) — Quelques remarques complémentaires sur la systématique des amibes du groupe Limax. (Bull. Soc. Zool. France. T. 37. 1912.)

4) **Martin** u. **Lewin**, Some Notes on Soil Protozoa. (Phil. Transact. Roy. Soc. London. Ser. B. Bd. 205. 1914.)

5) **Pascher**, A., Flagellaten und Rhizopoden in ihren gegenseitigen Beziehungen. Versuch einer Ableitung der Rhizopoden. (Arch. f. Protistenk. Bd. 38. 1918. S. 1—88.)

6) v. **Prowazek**, S., Amöbenstudien. (Biol. Centralbl. Bd. 17. 1897. S. 878—885.)

7) **Roeßle**, R., Spezifische Sera gegen Infusorien. (Arch. f. Hyg. Bd. 54. 1905. S. 1—31.)

8) **Schardinger**, F., Entwicklungskreis einer Amoeba lobosa: Amoeba Gruberi. (Sitzungsber. Kais. Akad. d. Wiss. Wien, Math.-Naturw. Kl. Bd. 108. 1899. Abt. I. S. 713—734. 2 Taf.)

9) v. **Schuckmann**, W., Untersuchungen über das serologische Verhalten verschiedener Amöbenstämme. (Arb. a. d. Reichsgesundheitsamt. Bd. 52. 1920. S. 133.)

10) v. **Wasielewski**, Th., u. **Hirschfeld**, L., Zur Technik der Amöbenuntersuchung. (Hyg. Rundsch. Jahrg. 19. 1909. S. 925—930.)

11) — — Untersuchungen über Kulturamöben. (Abhandl. Heidelb. Akad. Wiss., Math.-Naturw. Kl. Abhandl. I. Jahrg. 1910.)

12) — u. **Kühn**, A., Untersuchungen über Bau und Teilung des Amöbenkernes. (Zoolog. Jahrb. Abt. f. Anat. etc. Bd. 38. 1914. S. 253—326. Taf. 15—17.)

13) **Wherry**, W. B., Studies on the biology of an Amoeba of the Limax Group. Vahlkampfia sp. No. I. (Arch. f. Protistenk. Bd. 31. 1913.)

14) **Whitmore**, E. R., Studien über Kulturamöben aus Manila. (Arch. f. Protistenk. Bd. 23. 1911. S. 81—95. Taf. 3—4.)

15) **Zuelzer**, M., Der Einfluß des Meerwassers auf die pulsierende Vakuole. (Arch. f. Entwicklungsmech. Bd. 29. 1910. S. 633—641. Taf. 26.)

Nachdruck verboten.

Ueber die desinfizierenden Eigenschaften der Gluthschen Farben im Vergleich mit anderen Farbanstrichen.

[Aus der chem. Abt. des Instituts f. Infektionskrankheiten „Robert Koch“ (Abteilungsvorsteher: Geh. Regierungsrat Prof. Dr. Lockemann).]

Von Prof. Dr. **Fritz Croner,** früherem Oberassistenten am Institut.

Es ist eine für die Hygiene wichtige Frage, ob die mit dem Staub aufgewirbelten Keime an den Wandungen bewohnter Räume, besonders in Krankenhäusern, Schulen und ähnlichen Anstalten sehr lange am Leben bleiben bzw. durch besondere Wandanstriche zu schnellerem Absterben gebracht werden können. Von mehreren Fabriken werden Farben hergestellt, die desinfizierende Wirkung haben sollen. Teilweise sind sie jedoch recht teuer und deshalb für die Praxis wenig geeignet.

Die von dem Fabrikanten Carl Gluth hergestellten Farben haben den Vorzug eines geringen Preises, der sich sogar billiger stellen soll als der der üblichen Leim-, Kalk- und Oelfarben.

Die Gluthschen Farben gehören zur Klasse der Mineralfarben, da dieselben bis auf wenige Prozente nur mineralische Bestandteile enthalten, und der Bindestoff der Farben durch Hinzufügung von konservierenden Ingredientien sich an der Luft verkieselt. Die Firma benutzte für ihre Erzeugnisse früher auch die Bezeichnung Gluthsche Amphibolinfarben und stellt außerdem Farben in Oel her, die blei- und zinkweißfrei sein sollen.

Ueber desinfizierende Farbanstricke finden sich folgende Angaben in der Literatur:

Deycke[1]) konnte feststellen, daß die Gluthschen Farben bessere bakterizide Wirkung besäßen als Oelfarben und in noch höherem Maße als Kalk- und Leimfarben. Nach Mitteilung von Herrn Gluth arbeitete Deycke mit 2 verschiedenen Arten von Farben, von denen die in seinen Protokollen mit „II“ bezeichneten als Bindestoff Wasserglas „nach Gluthscher Methode“ enthalten.

Nach Untersuchungen von Heimes[2]) übertreffen die Amphibolinfarben die Emaillefarben und bei weitem die Kalk- und Leimfarben, während die Zoneafarben etwas bessere und gewöhnliche Oelfarben gleiche Resultate wie Amphibolinfarben lieferten.

Die Amphibolinfarben, mit denen Jacobitz[3]) seine Versuche anstellte, stammten nach mündlicher Mitteilung von Herrn Gluth nicht aus seiner Fabrik, und die mit ihnen erhaltenen Ergebnisse sind deshalb für die Beurteilung der Gluthschen Farben nicht maßgebend[4]).

Lydia Rabinowitsch[5]) legte den Hauptwert ihrer Untersuchungen auf die Feststellung der Desinfektionskraft von Farben gegenüber Tuberkelbazillen. Nach ihren Beobachtungen wirkten die Amphibolinfarben außerordentlich wenig auf Tuberkelbazillen ein, im Gegensatz zu einer Emaillefarbe von Horn & Frank, einem Pefton und einer Zoncafarbe.

---

[1]) Deycke, Ueber die Absterbebedingungen pathogener Keime auf gewissen Anstrichfarben. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 23. 1898.)

[2]) Heimes, Ueber das Verhalten der Anstrichfarben zu den pathogenen Bakterien. (Deutsch. med. Wochenschr. 1899. Vereinsbeil. S. 85.)

[3]) Jacobitz, Ueber desinfektorische Wandanstriche. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 37. 1901. S. 70.)

[4]) Es werden „Amphibolinfarben“ noch in anderen Fabriken hergestellt.

[5]) Rabinowitsch, Lydia, Ueber desinfektorische Wandanstriche mit besonderer Berücksichtigung der Tuberkulose. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 40. 1902. S. 559.)

Bei Untersuchungen mit Farbanstrichen, die von Rapp[1]), Xylander[2]) und Saltikow[3]) angestellt wurden, kamen zwar Amphibolinfarben als Vergleichsobjekte nicht in Anwendung, doch geht aus all diesen Versuchen die Notwendigkeit hervor, die Leim- und Kalkfarbenanstriche durch bessere zu ersetzen.

Die Versuche, die im folgenden beschrieben werden sollen, wurden vom Ende des Jahres 1913 bis August 1914 in der chemischen Abteilung des Kochschen Instituts ausgeführt mit Ausnahme der Prüfung mit Tuberkelbazillen, die in einer anderen Abteilung vorgenommen wurden. Die 1. der Versuchsreihen erstreckte sich infolge der Tierversuche für die Untersuchung auf Tuberkelbazillen über mehrere Monate, die 2. mußte wegen Kriegsausbruch abgebrochen werden, so daß die Tuberkuloseprüfungen nicht beendet und mehrere andere noch beabsichtigte Versuche nicht ausgeführt werden konnten.

Die Firma Carl Gluth hatte für diese Versuche verschiedene Farben zur Verfügung gestellt, die im folgenden als Gluth „weiß“, Gluth „grau“ und Gluth „braun“ bezeichnet werden sollen. Wir erhielten teils Originalproben dieser verschiedenen Farben, teils Holz- und Zementplatten, auf denen bereits von der Firma Farbanstriche aufgetragen waren. Außer diesen nach „Gluthschem Verfahren“ hergestellten Farben wurden Anstriche von Leim- und Kalkfarben untersucht, die von der Berliner Malerfirma Alex & Sohn angefertigt waren.

Vorversuche.

Zunächst wurden die Gluthschen Farben als solche, d. h. in Pulverform, auf ihre Keimfreiheit geprüft. Zu diesem Zwecke wurde je eine Oese des Pulvers in Bouillon gebracht und 24 Std. im Brutschrank belassen. Alsdann wurde eine Oese Bouillon auf Agar übertragen und bebrütet. Das Ergebnis war üppiges Wachstum auf dem Nährboden. Hieraus geht hervor, daß das Pulver als solches nicht frei von Keimen ist.

Durch einen 2. Versuch sollte festgestellt werden, ob das Farbpulver selbst, in Flüssigkeiten suspendiert, schon entwicklungshemmende Eigenschaften besitzt. Es wurde deshalb eine Oese Pulver mit einer Oese Staphylokokken zusammen in Bouillon gebracht und darin 24 Std. bebrütet, alsdann eine Probe hiervon auf Agar überimpft. Ergebnis: üppiges Wachstum. Hieraus geht hervor, daß das Gluthsche Farbpulver in der angewandten kleinen Menge weder desinfektorische noch entwicklungshemmende Eigenschaften besitzt.

Die nächsten Versuche zielten darauf hin, festzustellen, ob die von der Firma gelieferten Anstriche bereits keimfrei oder ob auf ihnen oberflächlich lebende Bakterien nachzuweisen waren. Zu diesem Zwecke wurden die auf Holz und Zementmörtel angebrachten Farbanstriche, die frei im Laboratorium gestanden hatten, mit sterilen Wattebäuschen oberflächlich abgerieben. Die Wattebäusche wurden alsdann in Bouillon gebracht und 48 Std. bebrütet. Das Ergebnis war folgendes:

---

1) Rapp, Untersuchungen über desinfektorische Wandanstriche. (Apotheker-Zeitg. 1901. S. 772.)

2) Xylander, Vitralin, eine desinfektorische Anstrichfarbe. (Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 29. 1908. S. 313.)

3) Saltikow, Ueber desinfektorische Wandanstriche. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 62. 1909. S. 453.)

Bei den Farben 1) Leimfarbe auf Holz, 2) Kalkfarbe auf Holz, 3) Gluth „grau“ auf Holz, 4) Gluth „weiß“ auf Holz, 5) Gluth „grau“ auf Zementmörtel: Wachstum; 6) Gluth „braun“ auf Holz, 7) Zementmörtel, 8) Wattebauschkontrolle: steril.

Es zeigte sich also, daß die verschiedenen Anstriche, welche frei im Zimmer gestanden hatten, an ihrer Oberfläche zum Teil Bakterien beherbergten. Es ist dies an sich nicht verwunderlich, da sich ständig Personen im Zimmer bewegten und damit Keime aufgewirbelt wurden. Es ist selbstverständlich eine gewisse Zeit erforderlich, bevor die Anstriche ihre desinfektorischen Eigenschaften entfalten können.

Um zu sehen, ob diese Platten, wenn sie unter sterile Verhältnisse kommen, allmählich keimfrei werden, wurden frische mit Anstrichfarben versehene Platten in sterile Schalen gebracht und 3 Tage stehen gelassen. Sie wurden alsdann wieder auf Sterilität geprüft. Es zeigte sich, daß Leimfarbe auf Holz, Gluth „weiß“ auf Holz, Kalkfarbe auf Holz, Gluth „grau“ auf Zementmörtel und Zementmörtel noch nicht keimfrei waren, während sich Gluth „grau“ auf Holz und Gluth „braun“ bereits in dieser Zeit als steril erwiesen.

In weiteren 3 Tagen war nur insofern eine Aenderung im Ergebnis eingetreten, als sich jetzt auch der Zementmörtel als steril erwies. Am 7. Tage waren nun auch der Leimfarbenanstrich und die Kalkfarbe auf Holz, ebenso Gluth „grau“ auf Zement steril geworden, während auf dem Zementmörtel, der am Tage vorher keimfrei gewesen war, wieder einzelne Keime nachweisbar waren. Nach weiteren 2 Tagen, also am 9. Tage vom Beginn der Untersuchung an, waren sämtliche Anstriche steril geworden.

I. Versuchsreihe.

Die Prüfung der Platten auf Abtötung von pathogenen Keimen wurde mit Reinkulturen von Bact. coli, Staphylokokken, Tuberkelbazillen und Bac. prodigiosus angestellt.

Für die Untersuchung wurden die Platten in 4 gleiche Teile geteilt und auf je einen solchen durch Bestreichen mit Wattebäuschen die betreffende Kulturaufschwemmung aufgebracht. Es wurde hierbei folgendes beobachtet:

Beim Bestreichen der Leimfarbe auf Holz bröckelte der Anstrich zum Teil ab. Die Farbe Gluth „grau“ auf Holz nahm die Feuchtigkeit nicht an, sondern diese schied sich in Tröpfchenform auf ihr ab. Gluth „weiß“ auf Holz nahm die Feuchtigkeit gut an; die Kalkfarbe auf Holz wurde durch die Feuchtigkeit abgeschwemmt. Farbe Gluth „braun“ verhielt sich wie Gluth „grau“; der Zementmörtel nahm die Feuchtigkeit ziemlich schlecht an. Ich ließ nun allmählich die Bakterien in der Luft antrocknen, brachte die Platten in sterile Petrischalen und stellte sie ans Fenster gegen Norden gerichtet. Daneben verblieben die Kulturaufschwemmungen als Kontrollen stehen.

Die erste Probeentnahme fand nach 4 Tagen statt. Sämtliche Kontrollen zeigten an diesem Tage und auch nach 2 Wochen Wachstum, nach 3 Wochen waren jedoch die Staphylokokken in der Schale abgetötet.

Ueber das Wachstum auf den einzelnen Platten gibt die beifolgende Tabelle I (S. 317) Auskunft.

Die Coli-, Staphylokokken- und Prodigiosus-Platten wurden auf ihre Keimfreiheit geprüft, indem über sie mittels feuchter, steriler Wattebäuschchen hinweggefahren wurde; diese Wattebäuschchen wurden alsdann in Bouillon übertragen und einige Tage bebrütet. Auch die

Tabelle 1.

I. Versuchsreihe.

Farbanstriche verschiedener Art auf verschiedenen Unterlagen.

Zeichenerklärung: C. = Bacterium coli, St. = Staphylococcus pyogenes aureus, Pr. = Prodigiosus, Tb. = Tuberkelbazillus, + = Wachstum, — = Keimfreiheit. Kein Zeichen: nicht geprüft.

Die Versuche mit Tuberkulose wurden an je 2 Meerschweinchen geprüft.

	Bakterium	nach 4 Tagen	nach 1 Woche	nach 2 Wochen	nach 3 Wochen	nach 6 Wochen	nach 9 Wochen
Kontrolle: Bakterienaufschwemmung in Kochsalz	C.	+	+	+	+		
	St.	+	+	+	—		
	Pr.	+	+	+	+		
	Tb.		+		+	+	+
I. Leimfarbe auf Holz	C.	—	—	—	—	—	—
	St.	+	—	—	—	—	—
	Pr.	—	—	—	—	—	—
	Tb.		— +		— —	— —	— —
II. Gluth „grau“ in Oel auf Holz	C.						
	St.						
	Pr.						
	Tb.		+ +		— —	— —	— —
III. Gluth „weiß“ auf Holz	C.	—	—	—	—	—	—
	St.	+	+	+	—	—	—
	Pr.	—	+	—	—	—	—
	Tb.						
IV. Kalkfarbe auf Holz	C.	+	+	+	+	?	?
	St.	+	+	+	+	+	+
	Pr.	+	+	+	+	+	—
	Tb.		+ +		— —	— —	— —
V. Gluth „braun“ auf Holz	C.	—	—				
	St.	—	—				
	Pr.	—	—				
	Tb.	—	+		—	—	—
VI. Gluth „grau“ auf Zement	C.	—	+	—	—	—	—
	St.	+	+	+	+	+	—
	Pr.	—	—	+	—	—	—
	Tb.						

mit Tuberkulose infizierten Platten wurden wie oben angegeben behandelt. Es wurde alsdann aus dem Wattebäuschchen etwas Flüssigkeit ausgedrückt und Meerschweinchen (je zweien für jeden Versuch) $^1/_2$ ccm davon am Unterbauch injiziert. Die Versuchstiere wurden monatelang beobachtet, und bei denjenigen, welche spontan zugrunde gingen, regelmäßig eine Sektion ausgeführt, um festzustellen, ob als Todesursache Tuberkulose oder eine sonstige Erkrankung anzusehen war. Diejenigen Tiere, die nach der beabsichtigten Beobachtungszeit noch am Leben waren, wurden alsdann getötet und auch diese daraufhin untersucht, ob sie gesund oder tuberkulös erkrankt waren. Sämtliche Kontrolltiere gingen an Tuberkulose zugrunde.

Gehen wir die Versuche im einzelnen durch, so kommen wir zu folgendem Ergebnis:

Bact. coli wurde von Gluth „weiß“ und Gluth „braun“, ebenso auf der Leimfarbe, nach 4 Tagen abgetötet; Gluth „grau“ auf Zement schien zwar nach 4 Tagen bereits steril zu sein, doch konnten nach 1 Woche an einer anderen Stelle noch lebende Keime nachgewiesen werden, nicht jedoch bei späteren Prüfungen. Auf der Kalkfarbe ließ sich das Bact. coli noch nach 3 Wochen wiederfinden; bei den bis auf 9 Wochen ausgedehnten Versuchen war seine Anwesenheit zweifelhaft.

Staphylokokken waren nach 4 Tagen auf der Leimfarbe noch nicht abgetötet, jedoch nach 1 Woche. Auf Gluth „weiß“ verschwanden sie zwischen der 2. und 3. Woche, bei der Kalkfarbe waren sie noch nach 9 Wochen mit Sicherheit nachweisbar. Die mit Gluth „braun“ bestrichenen Platten waren schon nach 4 Tagen steril, dagegen die mit Gluth „grau“ auf Zementmörtel erst zwischen 6 und 9 Wochen.

Prodigiosus war auf Leimfarbe innerhalb der ersten 4 Tage, ebenso auf Gluth „braun“ und Gluth „grau“ auf Zement abgetötet. Auf Gluth „weiß“ konnte nach scheinbarer Sterilität im Verlauf von 4 Tagen, noch nach 1 Woche Prodigiosus nachgewiesen werden. Auf der Kalkfarbe erfolgte die Abtötung zwischen der 6. und 9. Woche. Tuberkelbazillen wurden auf der Leimfarbe nach 8 Tagen noch gefunden, waren jedoch nach 3 Wochen verschwunden. Bei der Kalkfarbe war die Wirkung eine unsichere, indem zwar die Bazillen nach 3 Wochen verschwunden schienen, nach 6 Wochen jedoch wieder nachweisbar waren. Gluth „braun“ beherbergte nach 1 Woche noch Tuberkelbazillen, erwies sich jedoch in der Folgezeit als frei davon.

Zusammenfassend läßt sich aus dieser Versuchsreihe schließen, daß Gluth „braun“ die besten Ergebnisse gehabt hat; dieser Farbe schließt sich die Leimfarbe an; es folgen dann die anderen Gluthschen Farben und in weitem Abstande davon der Kalkanstrich.

II. Versuchsreihe.

Mit der 2. Versuchsreihe wurde im Juli 1914 begonnen. Es wurden verwendet: Kalkfarbe auf Holz, Kalkfarbe auf Zement, Leimfarbe, eine weiße Gluthsche Farbe mit organischem Bindemittel auf Holz, desgleichen auf Zement, eine braune Gluthsche Farbe mit organischem Bindemittel, Vitralin, eine Hochglanz-Emaillefarbe von Rosenzweig und Baumann und eine Zonca-Farbe. Es waren als Testbakterien in Aussicht genommen: Bact. coli, Diphtherie, Staphylokokken und Tuberkulose; doch konnten die Versuche mit letzterem Bakterium nicht zu Ende geführt werden, da inzwischen der Krieg ausgebrochen war. Die Platten wurden in der bei der vorigen Versuchsreihe angewandten Weise behandelt. Ueber das Ergebnis gibt beifolgende Tabelle II (S. 319) Auskunft.

Im einzelnen ist darüber folgendes zu bemerken: Sämtliche Bakterien waren nach 10 Wochen abgetötet. Bei den Kalkfarben waren Bact. coli und Staphylokokken nach 12 Tagen noch nachweisbar, Diphtherie war nach 4 Tagen abgetötet; Staphylokokken entwickelten sich noch nach 12 Tagen. An der auf Zement aufgetragenen Kalkfarbe waren Bact. coli zwischen dem 2. und 4. Tage abgetötet, Diphtherie zwischen dem 1. und 2. Tage, Staphylokokken noch nicht nach 12 Tagen.

Auf der Leimfarbe starb Bact. coli zwischen dem 2. und 4. Tage ab, Diphtherie war schon innerhalb der ersten 3 Stunden zugrunde gegangen, Staphylokokken wurden zwischen dem 2. und 4. Tage abgetötet. Auf Gluth „weiß“ auf Holz starb Bact. coli zwischen dem 1. und 2. Tag ab, Diphtherie innerhalb der ersten 3 Std. und Staphylokokken zwischen dem 4. und 12. Tage. Die mit Gluth „weiß“ auf Zement bestrichene Platte wurde zwischen dem 2. und 4. Tage frei von Bact.

Tabelle II.
2. Versuchsreihe.
Farbanstriche verschiedener Art auf verschiedenartigen Unterlagen.
Zeichenerklärung: C. = Bacterium coli. Di. = Diphtherie. St. = Staphylokokken.

	Bakterium	nach 3 Std.	nach 1 Tag	nach 2 Tagen	nach 4 Tagen	nach 11 Tagen	nach 10 Wochen
I. Kalkfarbe auf Holz	C.	+	+	+	+	+	—
	Di.	+	+	+	—		
	St.	+	+	+	+	+	—
II. Kalkfarbe auf Zement	C.	+	—	+	—	—	—
	Di.	+	+	—	—		—
	St.	+	—	+	+	+	—
III. Leimfarbe	C.	+	+	+	—	—	—
	Di.	—	—	—	—		—
	St.	+	+	+	—	—	—
IV. Gluth „weiß“ (mit organischem Bindemittel) auf Holz	C.	—	+	—	—	+	?
	Di.	—	—	—	—		
	St.	+	+	+	+	—	?
V. wie IV, auf Zement	C.	+	+	+	—	—	—
	Di.	—	—	—	—	+	—
	St.	+	+	+		+	—
VI. Gluth „braun“ (mit organischem Bindemittel) auf Holz	C.	+	—	—	—	—	—
	Di.	?	—	—	—	—	—
	St.	+	—	—	—	—	—
VII. Vitralin (Rosenzweig und Baumann	C.	+	+	?	—	—	—
	Di.	+	—	—			—
	St.	+	—	—	—	—	—
VIII. Zoncafarbe	C.	+	—	—	—	—	—
	Di.	—	—	—	—		—
	St.	+	—	+		+	—

coli, innerhalb der ersten 3 Std. frei von Diphtherie und beherbergte noch bis zum 12. Tage entwicklungsfähige Staphylokokken. Bei Gluth „braun“ waren nach 24 Std. sämtliche Keime abgetötet, ebenso auf Vitralin, mit Ausnahme von Bact. coli, welches erst nach 48 Std. zugrunde ging.

Zusammenfassung.

Uebersehen wir das bakteriologische Ergebnis dieser Versuche, so zeigt sich deutlich, daß die Kalkfarbenanstriche den anderen bei weitem unterlegen sind. Es erklärt sich dies daraus, daß zwar Kalziumoxyd Bakterien gegenüber stark desinfektorische Wirkung besitzt, diese Substanz jedoch nicht beständig ist, sondern schon an der freien Luft, besonders aber in bewohnten Räumen, Kohlensäure aufnimmt und sich in das Bakterien gegenüber vollkommen indifferente Kalziumkarbonat verwandelt. Je älter also ein derartiger Anstrich wird, um so mehr muß er seine Desinfektionskraft verlieren.

Die frischen Leimfarbenanstriche wirken erheblich besser als die Kalkfarben.

Die Gluthschen Farben zeigten untereinander keine gleichmäßige Wirkung. Bei weitem am meisten bewährte sich Gluth „braun“.

Seiner chemischen Zusammensetzung nach erklärt sich dies keineswegs, da dem färbenden Zusatz, dessen Natur mir mitgeteilt wurde, der im übrigen Geschäftsgeheimnis ist, eine desinfektorische Kraft keineswegs zukommt. Vielleicht spielt die Einwirkung des Lichts auf die verschiedenen Farbtöne eine gewisse Rolle bei der desinfizierenden Wirkung auf die Bakterien. Versuche, die über diese Frage hätten Aufklärung bringen können, mußten wegen Mangel an Zeit unterbleiben.

Hinter der braunen Gluthschen Farbe stand die Zoncafarbe etwas zurück, während ihr das Vitralin annähernd ebenbürtig war.

Xylander[1]) hebt als besonderen Vorzug des Vitralins hervor, daß seine desinfektorische Wirkung noch monatelang bestehen bleibt. Ob dies bei den Gluthschen Farben gleichfalls zutrifft, kann ich nicht beurteilen, da die Versuche vorzeitig abgebrochen werden mußten.

Abgesehen von ihrer schlechten desinfektorischen Wirkung, haben die Kalkfarben den großen Nachteil, daß sie stauben und sich bei Feuchtigkeit ablösen; sie können also weder naß abgewischt werden, noch widerstehen sie einer Raumdesinfektion mit Formaldehyd.

Dieselbe schlechte Eigenschaft besitzt die Leimfarbe, wie ich in Uebereinstimmung mit Deycke feststellen konnte.

Vitralin und Zonca sind dagegen außerordentlich feuchtigkeitsbeständig. Auch die Gluthschen Farben sind es. Hierbei zeigten die verschiedenen Farbentöne ein abweichendes Verhalten; die einen absorbierten die Feuchtigkeit, auf anderen setzte sie sich in Tropfenform ab. Einem diesem physikalischen Unterschied entsprechenden Unterschied in der Desinfektionswirkung konnte ich jedoch nicht feststellen.

Dagegen wurde beobachtet, daß die Beschaffenheit der Unterlage, auf die die Farben aufgetragen worden waren, nicht gleichgültig ist: auf porösem Grunde, wie Zement, dauerte die Abtötung länger als auf dem glatten Holz.

---

1) Xylander, l. c.

Inhalt.

Bach, F. W., Untersuchungen über die Säureflockung von Proteus-Stämmen, S. 265.

Croner, Fritz, Ueber die desinfizierenden Eigenschaften der Gluthschen Farben im Vergleich mit anderen Farbanstrichen, S. 314.

van Heelsbergen, T., Beitrag zur Kenntnis der Geflügelpocken, insbesondere mit Bezug auf ihre Verwandtschaft mit der Vogeldiphtherie, der Stomatitis pustulosa contagiosa equi und der Vakzine, S. 288.

Müller, Hermann, Die Verwendbarkeit der intrakutanen Tuberkulinprobe zur Diagnose der Meerschweinchentuberkulose, S. 256.

Pfeiler, W., u. Gräfe, Fr., Mitteilungen über die Serodiagnose der Rotzkrankheit. 9. Kommen nicht spezifisch ablenkende Substanzen im Blute von Eseln und Eselbastarden konstant vor? S. 279.

v. Schuckmann, W., Ueber den Einfluß spezifischer Sera auf die Flagellatenstadien von Kulturamöben, S. 304.

Seyler, Bakteriologische Untersuchungsergebnisse der Mannheimer Ruhrepidemie Juli bis November 1917. 2. Pathologisch-anatomischer Teil, S. 262.

Wolf, J. E., Beiträge zur Biologie des Pfeifferschen Influenzabazillus. Mischkulturen — Mischinfektion, S. 241.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 84. Heft 5.

Ausgegeben am 12. Mai 1920.

Nachdruck verboten.

Beitrag zur Systematik der Paracoli-Bazillen[1]).

[Aus dem bakteriologischen Feldlaboratorium 33 (Leiter: Reg.-Arzt Dr. P. Kaunitz) der k. u. k. Salubritätskommission No. 5 (Präses: Stabsarzt Priv.-Doz. Dr. V. Russ).]

Von Dr. **Paul György.**

Mit 22 Abbildungen im Text.

Unter dem Sammelnamen der Coli-Gruppe versteht man eine große Anzahl, in ihren verschiedenen Eigenschaften mehr oder weniger differenter Bazillen. Da sie das Hauptkontingent der Darmflora beim Menschen bilden, waren sie schon lange Gegenstand zahlreicher bakteriologischer Untersuchungen, nicht nur, um ihre physiologische und pathologische Bedeutung klarzustellen, sondern auch um innerhalb der Gruppe durch weitgehende Differenzierung eine Trennung der einzelnen Bakterienspezies herbeizuführen. Obgleich die Zahl der diesbezüglichen Arbeiten sehr groß ist, wurde noch keine Klarheit in der Systematik der Coli-Gruppe erzielt.

Nach verschiedenen Grundprinzipien hat man versucht, zu einer Differenzierung der einzelnen Bakterienspezies resp. zu Unterabteilungen der Coli-Gruppe zu gelangen. So wurde von den verschiedenen Forschern nacheinander der Morphologie, dem kulturellen, biologischen Verhalten, den serologischen Eigenschaften der Angehörigen der Coli-Gruppe besonderes Augenmerk zugewendet, ohne aber das gewünschte Ziel erreichen zu können. Selbst die Definierung, die Begrenzung des Begriffes „Coli-Gruppe" stößt schon auf Schwierigkeiten. So gehören morphologisch ganz verschieden gestaltete Bakterien zur Coli-Gruppe; schlanke, lange Bazillen findet man ebenso, wie kurze, plumpe Exemplare. Bloß in der Färbbarkeit zeigen sie eine gemeinsame artcharakteristische Eigenschaft, die besonders hervorzuheben wäre: alle färben sich mit Gram negativ. Die Kolonien zeigen auf den verschiedenen Nährböden untereinander auch verschiedene Formen; man hat versucht, den saftigen vom trockenen Typus abzutrennen (1). Der saftige, schleimige, den Kapselbazillen ähnliche Kolonietypus ist einer speziellen Bakterienart, dem Bact. lactis aërogenes zugeschrieben worden (2). Der Beweglichkeit als artspezifischem Merkmal ist auch keine besondere Bedeutung beizumessen. Man findet bewegliche, ebenso wie schlecht bewegliche oder sogar unbewegliche Repräsentanten der großen Coli-Gruppe [Konrich (3), Burri und Düggeli (2), Jaffé (4), Burk (1) u. a. (5)]. Gelatine wird in der Regel nicht verflüssigt, doch fordert Jaffé (4), daß Stämme, die sonst die übrigen typischen Merkmale der Coli-Gruppe aufweisen, aber Gelatine zu geringerer oder stärkerer Verflüssigung bringen, ebenfalls als der Coli-Gruppe angehörig betrachtet werden sollen. Milch wird in der Regel zur Gerinnung gebracht, doch findet man auch Stämme, die die Milch nicht koagulieren. Indol wird von den meisten Stämmen gebildet; es sind aber auch Stämme bekannt, die kein Indol produzieren. Das Verhalten in der Lackmusmolke soll auch wechseln; die Reduktion des Neutralrotagars könnte dagegen als typisches Merkmal [Jaffé (4)] betrachtet werden.

Wenn auch die scharfe Begrenzung der gesamten Coli-Gruppe unter den oben angeführten Umständen recht schwer erscheint, könnten die verschiedenen erwähnten Eigenschaften in bezug auf die Morphologie, auf das kulturelle Verhalten, ebenso, wie wir es weiter unten sehen werden, das Gärungsvermögen gegenüber den verschiedenen

---

[1]) Die vorliegende Arbeit war Ende 1917 fertiggestellt, spätere Arbeiten konnten nicht berücksichtigt werden.

Kohlehydraten eine Trennung, Klassifizierung der einzelnen Bakterienarten innerhalb der Coli-Gruppe ermöglichen. Und das ist auch von den verschiedenen Forschern versucht worden [vgl. Conradi und Bierast (5), Burk (1), Burri und Düggeli (2), Jafté (4), Smith, J. Henderson (6), Kligler (7), W. Stickdorn (8) u. a. (9, 10)]. So scheint nach diesem Prinzipe die Aufgabe: die Differenzierung der Bakterien der Coli-Gruppe teilweise gelöst. Allein der Versuch, die Klassifizierung durch serologische Mittel, durch die Agglutination und die Komplementbindung, zu erweitern und zu bestätigen, schlug vollständig fehl, indem kulturell zusammengehörende Stämme sich serologisch oft verschieden verhielten, dagegen kulturell, morphologisch abweichende Stämme gleiche serologische Reaktionen zeigen könnten (11). Man hat inagglutinable Stämme gefunden, dann wieder solche, die durch verschiedene heterologe Sera ausgeflockt wurden, ein Umstand, der durch ihre leichte Agglutinabilität erklärt wurde [Burk (1), S. Wolf (12), A. Radziewsky (13), S. Amiradžibi (14), Jaffé (4), Stickdorn (8)]. An der Inkongruenz der Resultate, die man durch die morphologischen, kulturellen, andererseits durch die serologischen Methoden erhalten hat, scheiterte bis heute der Versuch, eine genaue Systematik der Coli-Gruppe aufzustellen. Man begnügt sich mit der Vermutung, daß die Coli-Gruppe in eine Anzahl verschiedener Bakterienarten, Unterabteilungen, zerfällt, die aber bis jetzt eindeutig nicht differenziert werden konnten.

In ihrem biologischen Verhalten gegenüber den verschiedenen Kohlehydraten zeigen die Bakterien der Coli-Gruppe, wie oben erwähnt, ein besonders mannigfaltiges Bild, so daß man versucht hat, bloß auf Grund der Vergärungen der verschiedenen Kohlehydrate, die Coli-Gruppe in Unterabteilungen, resp. in Bakterienspezies zu teilen (15). Ohne auf dieses Kapitel näher einzugehen (wir kommen darauf bei unseren Untersuchungen noch zurück), heben wir nur die uns besonders interessierende Tatsache hervor, daß die Bakterien der Coli-Gruppe nach ihrem Verhalten gegenüber dem Milchzucker in 2 große Unterabteilungen zerfallen; zu der einen Gruppe gehören die Milchzucker spaltenden Bakterien, zu der anderen Gruppe diejenigen Bazillen, die den Milchzucker nicht anzugreifen vermögen, die sich also auf den gebräuchlichen Milchzuckernährböden den pathogenen Keimen der Coli-Typhus-Dysenteriegruppe ähnlich verhalten.

Gilbert und Lion (16) beschreiben zum ersten Male Bazillen der Coli-Gruppe, die Milchzucker nicht spalten, Milch nicht koagulieren. Sie sind beweglich, wenig beweglich oder auch vollständig unbeweglich. Indol können einige Stämme bilden, bei anderen fehlt dagegen die Indolbildung. Für solche atypischen Coli-Stämme hat Gilbert (17) den Namen „Paracoli-Bazillen“ eingeführt, der sich seither in der Nomenklatur der Bakteriologie eingebürgert hat. Der Begriff dehnte sich noch etwas weiter aus, indem auch Bazillen, die Milch zur Gerinnung bringen, Milchzucker aber nicht angreifen, ebenfalls in die Gruppe der Paracoli-Bazillen eingereiht werden.

Im Jahre 1907 beschrieb Massini (18) einen atypischen Coli-Stamm, den er Bact. coli mutabile nannte, da die Kolonien dieses Stammes auf milchzuckerhaltigen Nährböden die Fähigkeit besaßen, Michzucker vergärende Tochterkolonien zu bilden und so eine Art von Mutation im Sinne de Vries' zeigten. Die Angaben von Massini wurden auch durch andere Forscher bestätigt [Burk (19), Sauerbeck (20), Kowalenko (21), Baerthlein (22, 23) u. a.], worauf wir weiter unten noch ausführlicher zurückkommen. Das Bact. coli mutabile gehört aber, da es Milchzucker nicht vergärt, zu der Gruppe der Paracoli-Bazillen. In der systematischen Einteilung der paratyphusähnlichen Stämme von Gildemeister und Baerthlein (24) wird es dagegen als letztes Glied der großen Klasse der paratyphusähnlichen Bazillen angeführt.

Und so gelangen wir zur Feststellung der verwandtschaftlichen Beziehungen der Paratyphus- und Paracoli-Bazillen überhaupt. Ohne auf dieses große Thema näher einzugehen, heben wir nur hervor, daß der Paratyphus A und die Vertreter der engeren Paratyphus B-Gruppe, wie das neuerdings auch von Trawiński (25) aus unserem Laboratorium gezeigt wurde, scharf charakterisiert und von den sogenannten paratyphusähnlichen Bazillen abgetrennt werden können (26). Die paratyphusähnlichen Bazillen könnten dagegen in die Gruppe der Paracoli-Bazillen eingereiht werden.

Wenn auch die Gruppe der Paracoli-Bazillen mit der Paratyphusgruppe in engerer Verbindung steht, fehlt es doch nicht an Stämmen, die die Paracoli-Bazillen mit der Gruppe der Dysenteriebazillen in Verwandtschaft bringen sollen.

Epidemiologisch besonders interessant sind die Untersuchungen von Deycke und Reschad (27), die bei einer Dysenterieepidemie in Konstantinopel Stämme mit der Krankheit in ätiologische Beziehung gebracht haben, die gramnegativ, unbeweglich, geißellos waren, Indol bildeten, Traubenzucker, Mannit und Maltose vergärten, Milchzucker dagegen nicht angriffen und Milch nicht zur Gerinnung brachten. Kemp (28), der diese sogenannten Paradysenteriestämme später gründlich in Untersuchung zog, konnte die ätiologische Bedeutung derselben nicht bestätigen (29). Nach den angeführten Kennzeichen könnten die Paradysenteriebazillen vielmehr als Angehörige der großen Gruppe der Paracoli-Bazillen betrachtet werden.

Von vielen anderen Forschern (30) sind Paracoli-Bazillen in den Fäzes von Ruhrkranken gefunden worden, ohne daß man aber für ihre ätiologische Rolle bindende Beweise hätte liefern können. Nur bei der Kälberruhr (31) und vielleicht auch bei Cholera infantum (32) könnten Paracoli-Bazillen als ätiologische Faktoren angesehen werden.

Die pathologische Bedeutung der Paracoli-Bazillen ist aber hiermit noch lange nicht erschöpft.

In einer früheren Arbeit (33) haben wir über Befunde von Infektionen der Harnwege mit Paracoli-Bazillen bei Kranken berichtet, die meist kurz vorher an einem ulzerösen Prozeß (Typhus, Ruhr) der Darmschleimhaut gelitten haben. Die hämatogene Entstehung dieser Infektionen konnte mit großer Wahrscheinlichkeit behauptet werden. In der Literatur finden sich noch mehrere Angaben über Infektionen mit Paracoli-Bazillen, zum Teil allerdings aus einer Zeit, wo die Paratyphusbakterien entweder nicht bekannt waren, oder aber nicht genau differenziert werden konnten [1]) [Widal und Nobécourt (34), Schöne (35), Schütze (37), Meinicke und Neuhaus (37), Klieneberger (38)].

Die pathologische Bedeutung der Paracoli-Bazillen scheint also, trotz der verschiedenen, zum Teil einander widersprechenden Angaben bewiesen zu sein und erhöht somit das Interesse, die Gruppe dieser Bazillen näher kennen zu lernen. Trotzdem ist die Bakteriologie der Paracoli-Bazillen, wie aus der Literatur ersichtlich, sehr wenig aufgeklärt und die Systematik derselben kaum bearbeitet (39), mehr hingegen die der paratyphusähnlichen Bazillen (26). Da die Paracoli-Bazillen eigentlich nur eine Unterabteilung der großen Coli-Gruppe bilden, so liegt die Vermutung nahe, daß eine genaue Differenzierung derselben, ebenso wie die der engeren, Milchzucker vergärenden Coli-Bakterien, an der Unzulänglichkeit der serodiagnostischen Methoden, in erster Linie der Agglutination, scheitern würde. Es spricht aber sicher sehr viel Wahrscheinlichkeit dafür, daß unter dem Sammelnamen der Paracoli-Bazillen eine größere Anzahl Bakterien-Untergruppen sich befinden.

Wir stellten uns die Aufgabe, eine Differenzierung innerhalb der Paracoli-Bazillen auf Grund der morphologischen, kulturellen, biologischen und serologischen Eigenschaften zu versuchen. Neben der Verwendung der beiden bekannten Untersuchungsmethoden haben wir unser Augenmerk in erster Linie auf den Kolonietypus der untersuchten Paracoli-Bazillen, nach den Gesichtspunkten von Felsenreich und Trawiński (39), gerichtet. Ueberdies gelang Trawiński (25) die Differenzierung der Vertreter der engen Paratyphus B-Gruppe nur durch

---

1) Der Paracoli-Bazillus von Widal und Nobécourt, den wir aus dem Kràlschen Museum in Wien bezogen haben, konnte, wie weiter unten ersichtlich, mit dem echten Paratyphus B-Bazillus identifiziert werden.

die Versuche über den Kolonietypus. Russ und Trawiński (40) haben dann, gleichzeitig mit unseren Untersuchungen, paratyphusähnliche Bakterien des Pferdedarmes unter denselben Gesichtspunkten zu differenzieren versucht.

I. Gang der Untersuchung.

Da die Stämme, die wir aus dem Harn herausgezüchtet haben und über die wir schon in unserer früheren Arbeit (33) ausführlich berichteten, keine Beweglichkeit zeigten, haben wir unsere Aufgabe, die Paracoli-Bazillen zu differenzieren, ein wenig eingeengt, indem wir nur Paracoli-Bazillen, die keine Beweglichkeit zeigten, in Untersuchung gezogen haben. Im ganzen haben wir 47 unbewegliche Stämme geprüft, die aus den Fäzes von Gesunden oder von Kranken und Rekonvaleszenten, die an Typhus, Paratyphus oder Dysenterie litten, gewonnen wurden. Die Verarbeitung der Stühle erfolgte auf Lackmus-Laktose-Agarplatten (v. Drigalski und Conradi); die Besichtigung derselben und die Auslese der uns interessierenden Kolonien nach dem von Felsenreich und Trawiński beschriebenen Verfahren (39). Die isolierten Kolonien wurden auf Schrägagar abgeimpft, die Reinkulturen 3-wöchentlich auf frischen Schrägagar gebracht, und so aufbewahrt.

Zugleich mit den 47 unbeweglichen Paracoli-Stämmen wurden noch folgende Stämme, die mehr zur Kontrolle dienten, untersucht: 5 bewegliche Paracoli-Bazillen, 1 darunter von Kaunitz und Trawiński in unserem Laboratorium gezüchtet. Weiterhin 2 Stämme B. paracoli, bezeichnet 1. „St. Kuhn-Jaiser“, 2. Widal und Nobécourt, 1 Stamm B. coli mutabile und 3 Stämme B. coli comm. (bezeichnet 1. „Pollak“, 2. „Schnürer“, 3. „3“): sämtliche 5 letztere Stämme vom Kràlschen Museum in Wien.

Die morphologischen Eigenschaften der Stämme sind in nativen und gefärbten Präparaten untersucht worden. Besonders eingehend erfolgte die Prüfung der Beweglichkeit.

Das weitere kulturelle Differenzierungsverfahren wurde mit folgenden Nährsubstraten[1]) angestellt:

1) Nährbouillon. (Prüfung auf Häutchenbildung und Bodensatz.)
2) Milch. (Koagulation.)
3) Lackmusmolke nach Petruschky. (Kahlbaumsches Präparat.)
4) Nährgelatine, 15-proz. (Prüfung auf Verflüssigung.)
5) Peptonlösung (Witte), 4-proz. und Tryptophanlösung nach Zipfel (41). (Prüfung auf Indolbildung.)
6) Lackmus-Kohlehydrat-Agar (Prüfung auf Säure- und Gasbildung), und zwar mit folgenden Kohlehydraten oder ihren alkoholischen Derivaten: Glyzerin, Erythrit, Arabinose, Xylose, Mannit, Dulzit, Rhamnose (Isodulzit), Sorbit, Dextrose, Lävulose, Mannose, Galaktose, Saccharose, Laktose, Maltose, Raffinose, Dextrin, Inulin, Stärke und das zyklische Kohlehydrat, Inosit. Die Nährböden wurden genau so hergestellt wie der Lackmus-Laktose-Agar von v. Drigalski und Conradi, jedoch unter Weglassung der Nutrose. Die Kultur erfolgte einerseits auf Platten (Säurebildung bzw. Rotfärbung), oder im Stich (Gasbildung).
7) Lackmus-Laktose-Agarplatten von v. Drigalski und Conradi. (Prüfung des Kolonietypus und der sogenannten Mutation.)

---

[1]) Sämtliche hier in Betracht kommenden speziellen Präparate stammen von den Firmen E. Merck (Darmstadt) und C. A. F. Kahlbaum (Berlin-Adlersdorf).

Außerdem sind sämtliche Stämme auf ihre serologischen Eigenschaften mittels der Agglutination und teilweise der Komplementbindung untersucht worden. Agglutiniert wurde, um event. verwandtschaftliche Beziehungen aufzuklären, mit verschiedenen agglutinierenden Seris aus dem staatlichen Serotherapeutischen Institut in Wien (Paratyphus A und B, B. dysenteriae Flexner und Shiga-Kruse), bzw. aus dem Sächsischen Serumwerk in Dresden (Enteritis Gärtner). Außerdem sind Sera verwendet worden, die wir uns durch Immunisierung von Kaninchen selbst hergestellt haben (Stamm 3, 7, 22, 30, 32, 38, 50, 58, B. paracoli „St. Kuhn-Jaiser" und B. coli commune „Schnürer"). Der Titer der selbst hergestellten Sera variierte von 1:400—12000. Das Serum des Kranken, der unter Infektion mit dem Stamm 39 litt (33), ist auch zur Untersuchung gezogen worden (Aggl.-Titer für den homologen Stamm 1:8000). Je ein agglutinierendes Serum von Russ und Trawiński (40) durch Immunisierung eines Kaninchens mit einem paratyphusähnlichen Stamm des Pferdedarmes, bzw. von Trawiński (25) mit einem paratyphusähnlichen Stamm des Schweinedarmes, sind uns gütig zur Verfügung gestellt und ebenfalls verwendet worden.

Die Komplementbindungsversuche erfolgten mit den inaktivierten Kaninchen-Immunseris, die wir uns selbst hergestellt haben (Stamm 13, 19, 22, 38, 39, 49, 63, B. coli mutabile und B. coli commune „Schnürer"), als Ambozeptor, mit einem Antiformin-Bakterienextrakt nach Altmann und Schultz (42) als Antigen und Meerschweinchenkomplement. Das hämolytische System bestand aus ebenfalls selbst hergestelltem Rindererythrozyten-Kaninchenserum (Titer 1:1000) und Rinderblutkörperchen. Das notwendige Sparen mit dem Tiermaterial, besonders mit Meerschweinchen, hat eine Ausdehnung dieser Versuche auf sämtliche Stämme verhindert.

Alle Stämme wurden auch auf ihr pathogenes Verhalten gegenüber weißen Mäusen geprüft. Die Prüfung erfolgte durch subkutane Impfung von 0,5 ccm einer 24-stündigen Bouillonkultur des betreffenden Stammes. Mäuse, bei denen die Impfung negativ verlief, sind nach 8 Tagen einer neuerlichen Impfung unterzogen worden. Die überlebenden Mäuse sind nach weiteren 8 Tagen mit Chloroform getötet, sofort seziert und bakteriologisch verarbeitet worden. Ebenso sind Mäuse, die infolge der Impfung starben, womöglich sofort seziert und das von den einzelnen Organen entnommene Material bakteriologisch untersucht worden.

II. Morphologisches Verhalten der geprüften Stämme.

Morphologisch lassen sich bei den untersuchten 47 unbeweglichen und 5 beweglichen Paracoli-Stämmen plumpe und schlanke Bazillen unterscheiden, wie das schon Felsenreich und Trawiński (39) bei dieser Gruppe von Bazillen beobachtet haben. Daß wir eine Einteilung der Paracoli-Bazillen nur nach ihrem verschiedenen morphologischen Aussehen trotzdem nicht für zweckmäßig halten, hat seinen Grund darin, daß wir auch Stämme gefunden haben, bei denen man schlanke und plumpe Formen in derselben Kultur getroffen hat oder aber, daß das Aussehen der Stämme nach den Kulturbebedingungen zu variieren scheint. So zeigt der Stamm 43 vom Schrägagar plumpe, kurze Exemplare; nach mehrmaliger Passage in niedriger Bouillonschicht nimmt er mehr eine schlanke, lange Form an. Kurze, plumpe Form zeigten folgende Stämme:

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

1, 4, 9, 15, 19, 20, 24, 25, 26, 28, 30, 32, 33, 38, 39, 40, 41, 42, 45, 46, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 58, 59, 60, 62, 63, 66; dagegen in schlanker, langer Form erschienen die Stämme 3, 6, 13, 23, 29, 35, (43), 44, während die übrigen untersuchten Stämme mehr den Uebergang zwischen den beiden erwähnten Gruppen bilden.

Im Ausstrichpräparate zeigen die Bazillen keine typische Anordnung, sie färben sich leicht und gleichmäßig mit wässeriger Lösung basischer Anilinfarbstoffe und durchweg gramnegativ.

Besonders eingehend ist die Beweglichkeit der Stämme untersucht worden. Die Feststellung dieser Eigenschaft ist mit sehr großen Schwierigkeiten verbunden, wie das auch von den verschiedenen Forschern [Burk (1), Jaffé (4) u. a.] betont wird. Gerade die Schwierigkeit, einen Stamm mit absoluter Sicherheit für unbeweglich zu erklären, bildet das größte Hindernis, die Paracoli- und demzufolge auch die Coli-Stämme auf Grund ihrer Beweglichkeit zu differenzieren. Wie Burckhardt (43) neuerdings so treffend bemerkt hat, kann man ein Bakterium nicht lange genug unter den verschiedensten Bedingungen untersuchen, bevor man behaupten darf, daß es unbeweglich ist. So ist es ihm in einem Versuche geglückt, nach wiederholten Uebertragungen Stämme als beweglich zu erkennen, die in einer oder mehreren der ersteren Generationen unbeweglich waren und keine Geißeln zeigten. Gestützt auf diese Tatsache, haben wir uns nicht mit der Untersuchung der Stämme bloß im nativen Zustand, d. h. im hängenden Tropfen von einer 5—10-stündigen Bouillonkultur und mit der Geißelfärbung der Zettnowschen Methode der Silberimprägnation (44) von 8—16 Std. alten Schrägagarkulturen begnügt. Wir dehnten unsere Versuche auch in der Weise aus, daß wir die Stämme in sehr niedriger Bouillonschicht in Erlenmeyer-Kolben (v. Lingelsheim (45), unter Passage genommen haben; die Stämme werden vormittags in Bouillon verimpft durch 8 bis 10 Std. bebrütet, nachmittags schließt man dieser 1. Bouillonkultur eine 2. an, am nächsten Tage vormittags eine 3., nachmittags die 4. usf. Nach jeder Passage wird die Beweglichkeit im hängenden Tropfen sofort nach Herausnahme aus dem Thermostat und auch nach Belassung bei Zimmertemperatur geprüft. Zur Konstatierung der Reinkultur werden die Stämme nach Beendigung der Passagereihen auf Lackmus-Laktose-Agarplatten (v. Drigalski und Conradi) gebracht. Sämtliche Stämme haben wir unter 20 solche Passagen genommen, und erst dann, wenn alle Passagen und auch die Geißelfärbung negativ ausgefallen ist, haben wir die Stämme für unbeweglich erklärt. Die Resultate unserer diesbezüglichen Untersuchungen bestätigen die erwähnten Angaben von Burckhardt (43). So haben wir Stämme beobachtet, die erst nach der 1. oder 2. Uebertragung im Nativpräparat Beweglichkeit zeigten, obwohl sie schon vor der 1. Passage Geißeln aufwiesen. Dieselben sind, da wir für bewegliche Stämme weiter kein Interesse hatten, einer näheren Untersuchung nicht mehr unterzogen worden[1]. Aber auch Stämme, die nicht nur in den ersten Passagen vollständig unbeweglich waren, sondern auch keine Geißeln zeigten, erwiesen sich bei späteren Passagen als beweglich. Auch nach unseren Untersuchungen kann also der Beweglichkeit als artspezifischem Merkmal keine ausschlaggebende Bedeutung beigemessen werden, daher scheint uns eine Differenzierung der Paracoli-Bazillen auf Grund der Beweglichkeit undurchführbar.

---

[1] Nur bei der Numerierung der Stämme sind auch die beweglichen Exemplare, laut unseren Protokollen, berücksichtigt worden. So erklärt sich der Umstand, daß einige Ziffern, wie 2, 8, 17 etc., fehlen, da sie eben solche bewegliche Stämme bezeichnet haben.

Auch nach 20 Passagen unbeweglich und geißellos blieben folgende Stämme: 1, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 13, 14, 15, 19, 20, 23, 24, 25, 26, 28, 29, 30, 32, 33, 34, 35, 38, 40, 42, 43, 44, 45, 46, 49, 51, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63. Bei einer Versuchsreihe nach 7, bei einer 2. nach 4 Passagen ist der Stamm 16; der Stamm 50 nach 4 bzw. 7 und der Stamm 66 nach 5 bzw. 6 Passagen beweglich geworden. Der Stamm 50 ist aus dem Harn eines Kranken, Stamm 66 aus einem Nierenabszeß bei der Sektion desselben Falles (Fall 1 in unserer früheren Arbeit (33) gezüchtet worden, zeigen also eine identische Herkunft, die auch ihr Verhalten in bezug auf die Beweglichkeit erklärt.

Die beweglichen Kontrollstämme zeigten peritrichial angeordnete Geißeln, ähnlich dem Paratyphus B.

III. Kulturelles und biologisches Verhalten der geprüften Stämme.

In der Nährbouillon bildet sich nach 24-stündiger Bebrütung bei 37° eine leichte, gleichmäßige Trübung und ein Bodensatz, der nach 48 Std. an Menge bedeutend zunimmt. Bei manchen Stämmen erscheint an der Oberfläche der Bouillonkultur ein mehr oder weniger zartes Häutchen. Nach 48-stündiger Bebrütung fanden wir bei den folgenden Stämmen Häutchenbildung: Stamm 3, 4, 6, 7, 9, 19. 24, 25, 26, 28, 39, 40, 41, 43, 44, 46, 46, 49, 50 (wenig), 51, 55, 56, 57, 58. 60, 62, 66 (wenig); bei sämtlichen übrigen Stämmen vermißten wir solche Oberflächenhäutchen.

Auf Schrägagar bildeten sämtliche Stämme einen grauweißen, feuchtglänzenden, ziemlich dicken Belag, ohne sonstige besondere Merkmale. Ein auffallender Unterschied in den Schrägagarkulturen zwischen den einzelnen untersuchten Stämmen konnte nicht nachgewiesen werden.

In Stichgelatine wachsen sämtliche Stämme in Form von weiß-gelblichen Streifen, ohne besondere Merkmale. Auf der Oberfläche bilden sie meist ausgebreitete, üppige, weinblattartige Ansiedlungen; zwischen den einzelnen Stämmen konnte kein auffallender Unterschied beobachtet werden. Die Kulturen sind 28 Tage bei Zimmertemperatur aufbewahrt worden. Verflüssigung konnte bei keinem der untersuchten Stämme festgestellt werden; sie verhalten sich also so, wie es von der gesamten Coli-Gruppe im allgemeinen behauptet wird.

Die Untersuchungen in bezug auf das Verhalten der Stämme gegenüber einzelnen Kohlehydraten und ihren alkoholischen Derivaten zeigten, wie Tab. I lehrt, daß die untersuchten Paracoli-Bazillen nach dem Verhalten ihres Vermögens gegenüber den Kohlehydraten und den alkoholischen Derivaten derselben in 19 Gruppen eingeteilt werden können, in welche auch die beweglichen Kontrollstämme 22, 41, 52, 53 aufgenommen, jedoch die übrigen Kontrollstämme gesondert ausgewiesen wurden. Die Angaben über das Verhalten des Schweinestammes 3 „Trawiński" und des Pferdestammes 12 sind den entsprechenden Arbeiten von Trawiński (25) bzw. Russ und Trawiński (40) entnommen worden.

Wie oben schon erwähnt, erfolgte die Untersuchung auf Lackmus-Kohlehydrat-Agarplatten (S = Säurebildung) und im Stich (G = Gasbildung). Falls unvergoren, sind die Kulturen 3 Tage im Thermostat bei 37°, dann weitere 4 Tage bei Zimmertemperatur beobachtet worden, bevor das Resultat endgültig abgelesen wurde.

a) 3-wertiger Alkohol.

1) Glyzerin, das für die Differenzierung der untersuchten Stämme besonders geeignet ist. Die meisten untersuchten Paracoli-Stämme haben Glyzerin unter Gas- und Säurebildung (S + G) angegriffen, nur die Stämme 28, 49, 56, 60 zeigten keine Einwirkung auf Glyzerin, und die Stämme 4 und 20 produzierten nur Säure, aber kein Gas. Da Paratyphus B das Glyzerin nicht anzugreifen vermag, ist es für die Differenzierung der Paracoli-Bazillen von den Paratyphusbazillen geeignet, wenn auch einzelne Paracoli-Stämme keine Einwirkung auf Glyzerin gezeigt haben. Bei den Stämmen, die in bezug auf das Glyzerin sich den Paratyphusbazillen ähnlich verhalten, muß nach anderen trennenden Merkmalen gefahndet werden.

Selbst bei der engeren Coli-Gruppe scheint das Verhalten der Stämme gegenüber dem Glyzerin nicht einheitlich zu sein, da der untersuchte Kontrollstamm, B. coli

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

comm. „Schnürer" Glyzerin nicht zu vergären vermochte, während die übrigen 2 es unter Gas- und Säurebildung zersetzt haben.

Auf die Entfärbung der unteren Partien der Stichkultur, die als Reduktion des Lackmusfarbstoffes gedeutet werden kann, haben wir kein großes Gewicht gelegt. Wir möchten bloß bemerken, daß in erster Linie die Stämme 1 und 38, dann auch Paratyphus B, B. paracoli, St. Kuhn-Jaiser und das B. coli mutabile in ihren Stichkulturen solche Reduktion (Entfärbung) bei allen untersuchten Kohlehydraten und Alkoholen aufweisen.

b) 4-wertiger Alkohol.

2) **Erythrit.** Ist von keinem der untersuchten Stämme vergoren worden.

c) Pentosen.

3) **Arabinose**, die, mit Ausnahme des einzigen Stammes 29, von allen übrigen Bazillen unter Gas- und Säurebildung vergoren wurde.

4) **Xylose**, die allein beim Stamme 20 keine Aenderung zeigt, sonst aber von allen übrigen Stämmen zersetzt wird.

5) **Rhamnose**, eine Methylpentose, wird durch die meisten Stämme unter Gas- und Säurebildung zerlegt, jedoch vermögen die Stämme 16, 30, 49, 60, 52, 53, 59, 61 sie nicht anzugreifen, und bei dem Stamme 42 bleibt die Zersetzung bei der Säurebildung ohne Gasbildung stehen. Die Kulturen sämtlicher Kontrollstämme zeigen auf den Rhamnose-Nährböden Gas- und Säurebildung.

d) 6-wertige Alkohole.

6) **Mannit** wird, mit Ausnahme des Stammes 20, von allen übrigen Stämmen unter Gas- und Säurebildung zersetzt.

7) **Dulzit** ist in bezug auf die Möglichkeit einer Differenzierung der einzelnen Gruppen vielleicht der wichtigste Vertreter der untersuchten Kohlehydratarten. So sind z. B. die Gruppen II und III nur durch ihr Verhalten gegenüber dem Dulzit voneinander zu trennen. Wie Tab. I zu entnehmen ist, findet man Gas- und Säurebildung in den Dulzitkulturen bei den Gruppen II, IV, VI, XIII, XIV, XVI, bloß Säurebildung bei der Gruppe XIX; die Vertreter der übrigen Gruppen zeigen auf das Dulzit keine Einwirkung. Ebenso fehlt eine Einwirkung auf das Dulzit bei den Kontrollstämmen: B. coli mutabile, B. coli comm. „3", Stamm 14 „Kaunitz und Trawiński" und Pferdestamm 12 „Russ-Trawiński", dagegen konnte bei den übrigen Kontrollstämmen Gas- und Säurebildung (S + G) konstatiert werden.

8) **Sorbit** wird nur durch die Stämme 4, 59 und den Schweinestamm 3 Trawiński nicht angegriffen, beim Stamm 35 bloß bis zur Säurebildung zersetzt. Sonst bei allen übrigen Stämmen Gas- und Säurebildung (G + S).

e) Hexosen.

9) **Dextrose.** Bei allen Stämmen Gas- und Säurebildung.
10) **Laevulose.** Bei allen Stämmen Gas- und Säurebildung.
11) **Mannose.** Bei allen Stämmen Gas- und Säurebildung.
12) **Galaktose.** Bei allen Stämmen Gas- und Säurebildung.

f) Disaccharide.

13) **Saccharose** ist ebenfalls ein sehr wichtiger Vertreter der untersuchten Kohlehydratarten. Eine Zersetzung derselben konnte nur bei wenigen Gruppen baobachtet werden; bei den Gruppen I, IV, XI, XIV, XVI unter Gas- und Säurebildung, bei den Gruppen VIII, XIII, XIX nur bis zur Säurebildung. Die Pathogenität der untersuchten Paracoli-Bazillen läuft mit dem Vermögen, Saccharose zu versetzen, wie es in bezug auf die gesamte Coli-Gruppe von verschiedenen Forschern angenommen wurde (5), nicht parallel, denn, wenn auch einige Stämme, die sich beim Menschen pathogen zeigten (33), wie 24 und 39, Saccharose zu spalten vermochten, konnte wieder bei anderen pathogenen Stämmen, wie 19, 50, 58, 66, ein Abbau der Saccharose nicht festgestellt werden.

Da unter den Kontrollstämmen nur 2 Coli comm.-Stämme (B. coli comm. „Pollak" und „3") Saccharose abgebaut haben, wäre es naheliegend, Stämme, die Saccharose vergären, mit den Coli comm.-Stämmen in verwandtschaftliche Beziehung zu setzen. Wie beim Glyzerin, darf diese Regel auch bei der Saccharose nicht verallgemeinert werden, da selbst ein zur Coli comm.-Gruppe gehörender Kontrollstamm — B. coli comm. „Schnürer" — Saccharose (wie auch Glyzerin) nicht abzubauen vermochte.

14) **Laktose** wird nur von den Vertretern der engen Coli-Gruppe angegriffen.

(Ueber mutationsähnliche Vorgänge auf laktosehaltigen Nährböden wird weiter unten ausführlicher berichtet.)

15) **Maltose** wird durch sämtliche Stämme unter Gas- und Säurebildung, durch den Stamm 4 nur unter Säurebildung, zerlegt.

g) Trisaccharide.

16) **Raffinose** wird nur von Stämmen gespaltet, die auch Saccharose anzugreifen vermögen. Allein es scheint, daß die Raffinose, als ein höheres Kohlehydrat, schon schwerer zersetzbar ist als die Saccharose, da einige Gruppen, die Saccharose noch spalten, auf Raffinose keine Einwirkung mehr zeigen. Unter Gas- und Säurebildung wird die Raffinose in den Kulturen der Gruppen VIII, XII, XIII, XIV, XVI, bloß unter Säurebildung durch den Stamm 61 abgebaut. Bei den Kontrollstämmen vergären Raffinose, ebenso wie Saccharose, nur das B. coli comm. „Pollak“ und B. coli comm. „3“.

h) Polysaccharide.

Die untersuchten Polysaccharide 17) **Dextrin**, 18) **Inulin**, 19) **Stärke** werden von den untersuchten Paracoli-Bazillen nicht angegriffen. Auch die Kontrollstämme zeigen auf die Polysaccharide keine Einwirkung; bloß bei den Vertretern der engen Coli-Gruppe, B. coli comm. „Pollak“, „Schnürer“ und „3“ beobachtet man in den Dextrinkulturen eine geringe Rotfärbung (Säurebildung).

i) Zyklische Kohlehydrate.

20) **Inosit** wird nur von Stämmen der Gruppe I unter Säurebildung abgebaut; die übrigen Stämme lassen es unverändert.

Wenn wir die Versuche über das Verhalten der untersuchten Stämme gegenüber den Kohlehydraten und den alkoholischen Derivaten derselben noch einmal kurz zusammenfassen, so finden wir, daß die untersuchten Stämme nach ihrem verschiedenen Spaltungsvermögen in einzelne Gruppen geteilt werden können, die nicht nur untereinander, sondern auch von den untersuchten Kontrollstämmen zu unterscheiden sind. Besonders hervorgehoben muß werden die Konstanz der Ergebnisse, die durch mehrmalige Versuchsreihen bestätigt wurde. Zwischen der zuerst durchgeführten diesbezüglichen Versuchsreihe und der zuletzt angestellten liegt eine Frist von ungefähr 6 Monaten.

In drei, unter gleichen Bedingungen ausgeführten Versuchsreihen haben wir das Verhalten der Stämme in Milch untersucht. Die übereinstimmenden Resultate der Versuche ergaben, wie auch erwartet, daß die Milch von verschiedenen Stämmen zur Gerinnung gebracht wurde, jedoch begegneten wir auch Stämmen, die Milch nach einer 4-wöchentlichen Bebrütung bei 37° nicht koaguliert haben. In Tab. II haben wir die Ergebnisse der Milchkulturen zusammengestellt. Die Gruppeneinteilung, die wir bei den Untersuchungen über das Gärungsvermögen der Stämme gegenüber den Kohlehydratarten gewonnen haben, steht mit einer einzigen Ausnahme der Gruppe II (s. Tab. I) auch nach den Ergebnissen der Milchkulturen weiter aufrecht, indem die Stämme, die nach Tab. I einer Gruppe angehören, in den Milchkulturen ein ebenfalls identisches Verhalten zeigen. Bloß die Gruppe II mußte geteilt werden, da wir in ihr nicht nur Stämme beobachten konnten, die Milch zur Gerinnung brachten, sondern auch solche, die Milch nicht koaguliert haben. Statt 19 Gruppen, sind die untersuchten, von uns herausgezüchteten Paracoli-Stämme in 20 Gruppen zu teilen, wobei einzelne Gruppen, wie auch in der Tab. I, nur je einen einzigen Vertreter aufweisen. Bei den folgenden Untersuchungen werden wir uns an diese Einteilung in 20 Gruppen halten und die einzelnen Gruppen werden nach ihrer Nummer, wie in Tab. II, angeführt.

Tabelle

Stämme	Glyzerin	Erythrit	Arabinose	Xylose	Mannit	Dulzit	Rhamnose (Isodulzit)	Sorbit	Dextrose
I. Gruppe: Stamm 1	S + G	—	S + G	S + G	S + G	—	S + G	S + G	S + G
„ 38	S + G	—	S + G	S + G	S + G	—	S + G	S + G	S + G
II. Gruppe: Stamm 3	S + G	—	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G
„ 6	S + G	—	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G
„ 7	S + G	—	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G
„ 13	S + G	—	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G
„ 14	S + G	—	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G
„ 22	S + G	—	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G
„ 23	S + G	—	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G
„ 26	S + G	—	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G
„ 34	S + G	—	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G
„ 43	S + G	—	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G
„ 44	S + G	—	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G
„ 50	S + G	—	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G
„ 54	S + G	—	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G
„ 57	S + G	—	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G
„ 58	S + G	—	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G
„ 63	S + G	—	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G
„ 66	S + G	—	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G
III. Gruppe: Stamm 5	S + G	—	S + G	S + G	S + G	—	S + G	S + G	S + G
„ 9	S + G	—	S + G	S + G	S + G	—	S + G	S + G	S + G
„ 15	S + G	—	S + G	S + G	S + G	—	S + G	S + G	S + G
„ 19	S + G	—	S + G	S + G	S + G	—	S + G	S + G	S + G
„ 33	S + G	—	S + G	S + G	S + G	—	S + G	S + G	S + G
„ 46	S + G	—	S + G	S + G	S + G	—	S + G	S + G	S + G
„ 51	S + G	—	S + G	S + G	S + G	—	S + G	S + G	S + G
„ 55	S + G	—	S + G	S + G	S + G	—	S + G	S + G	S + G
„ 62	S + G	—	S + G	S + G	S + G	—	S + G	S + G	S + G
IV. Gruppe: Stamm 24	S + G	—	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G
„ 25	S + G	—	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G
„ 39	S + G	—	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G
„ 40	S + G	—	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G
„ 45	S + G	—	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G
V. Gruppe: Stamm 4	S	—	S + G	S + G	S + G	—	S + G	—	S + G
VI. Gruppe: Stamm 16	S + G	—	S + G	S + G	S + G	S + G	—	S + G	S + G
VII. Gruppe: Stamm 20	S	—	S + G	S + G	—	—	S + G	S + G	S + G
VIII. Gruppe: Stamm 28	—	—	S + G	S + G	S + G	—	S + G	S + G	S + G
IX. Gruppe: Stamm 29	S + G	—	—	S + G	S + G	—	S + G	S + G	S + G
X. Gruppe: Stamm 30	S + G	—	S + G	S + G	S + G	—	—	S + G	S + G
XI. Gruppe: Stamm 32	S + G	—	S + G	S + G	S + G	—	S + G	S + G	S + G
XII. Gruppe: Stamm 35	S + G	—	S + G	S + G	S + G	—	S + G	S	S + G
XIII. Gruppe: Stamm 41	S + G	—	S + G	—	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G
XIV. Gruppe: Stamm 42	S + G	—	S + G	S + G	S + G	S + G	S	S + G	S + G
XV. Gruppe: Stamm 49	—	—	S + G	S + G	S + G	—	—	S + G	S + G
„ 60	—	—	S + G	S + G	S + G	—	—	S + G	S + G
XVI. Gruppe: Stamm 52	S + G	—	S + G	S + G	S + G	S + G	—	S + G	S + G
„ 53	S + G	—	S + G	S + G	S + G	S + G	—	S + G	S + G
XVII. Gruppe: Stamm 56	—	—	S + G	S + G	S + G	—	S + G	S + G	S + G
XVIII. Gruppe: Stamm 59	S + G	—	S + G	—	S + G	—	—	—	S + G
XIX. Gruppe: Stamm 61	S + G	—	S + G	S + G	S + G	S	—	S + G	S + G

I.

Lävulose	Mannose	Galaktose	Saccharose	Laktose	Maltose	Raffinose	Dextrin	Inulin	Stärke	Inosit	Anmerkung
S + G	S + G	S + G	S + G	—	S + G	—	—	—	—	S	Starke Entfärbung des Lackmusfarbstoffes bei sämtlichen Zuckerarten
S + G	S + G	S + G	S + G	—	S + G	—	—	—	—	S	
S + G	S + G	S + G	—	—	S + G	—	—	—	—	—	
S + G	S + G	S + G	—	—	S + G	—	—	—	—	—	
S + G	S + G	S + G	—	—	S + G	—	—	—	—	—	
S + G	S + G	S + G	—	—	S + G	—	—	—	—	—	
S + G	S + G	S + G	—	—	S + G	—	—	—	—	—	
S + G	S + G	S + G	—	—	S + G	—	—	—	—	—	
S + G	S + G	S + G	—	—	S + G	—	—	—	—	—	
S + G	S + G	S + G	—	—	S + G	—	—	—	—	—	
S + G	S + G	S + G	—	—	S + G	—	—	—	—	—	
S + G	S + G	S + G	—	—	S + G	—	—	—	—	—	
S + G	S + G	S + G	—	—	S + G	—	—	—	—	—	
S + G	S + G	S + G	—	—	S + G	—	—	—	—	—	
S + G	S + G	S + G	—	—	S + G	—	—	—	—	—	
S + G	S + G	S + G	—	—	S + G	—	—	—	—	—	
S + G	S + G	S + G	—	—	S + G	—	—	—	—	—	
S + G	S + G	S + G	—	—	S + G	—	—	—	—	—	
S + G	S + G	S + G	—	—	S + G	—	—	—	—	—	
S + G	S + G	S + G	—	—	S + G	—	—	—	—	—	
S + G	S + G	S + G	—	—	S + G	—	—	—	—	—	
S + G	S + G	S + G	—	—	S + G	—	—	—	—	—	
S + G	S + G	S + G	—	—	S + G	—	—	—	—	—	
S + G	S + G	S + G	—	—	S + G	—	—	—	—	—	
S + G	S + G	S + G	—	—	S + G	—	—	—	—	—	
S + G	S + G	S + G	—	—	S + G	—	—	—	—	—	
S + G	S + G	S + G	—	—	S + G	—	—	—	—	—	
S + G	S + G	S + G	—	—	S + G	—	—	—	—	—	
S + G	S + G	S + G	S + G	—	S + G	—	—	—	—	—	
S + G	S + G	S + G	S + G	—	S + G	—	—	—	—	—	
S + G	S + G	S + G	S + G	—	S + G	—	—	—	—	—	
S + G	S + G	S + G	S + G	—	S + G	—	—	—	—	—	
S + G	S + G	S + G	S + G	—	S + G	—	—	—	—	—	
S + G	S + G	S + G	—	—	S	—	—	—	—	—	
S + G	S + G	S + G	—	—	S + G	—	—	—	—	—	
S + G	S + G	S + G	—	—	S + G	—	—	—	—	—	
S + G	S + G	S + G	S	—	S + G	S + G	—	—	—	—	
S + G	S + G	S + G	—	—	S + G	—	—	—	—	—	
S + G	S + G	S + G	—	—	S + G	—	—	—	—	—	
S + G	S + G	S + G	S + G	—	S + G	S + G	—	—	—	—	
S + G	S + G	S + G	—	—	S + G	—	—	—	—	—	
S + G	S + G	S + G	S	—	S + G	S + G	—	—	—	—	
S + G	S + G	S + G	S + G	—	S + G	S + G	—	—	—	—	
S + G	S + G	S + G	—	—	S + G	—	—	—	—	—	
S + G	S + G	S + G	—	—	S + G	—	—	—	—	—	
S + G	S + G	S + G	S + G	—	S + G	S + G	—	—	—	—	
S + G	S + G	S + G	S + G	—	S + G	S + G	—	—	—	—	
S + G	S + G	S + G	—	—	S + G	—	—	—	—	—	
S + G	S + G	S + G	—	—	S + G	—	—	—	—	—	
S + G	S + G	S + G	S	—	S + G	S	—	—	—	—	

Stämme	Glyzerin	Erythrit	Arabinose	Xylose	Mannit	Dulzit	Rhamnose (Isodulzit)	Sorbit	Dextrose
B. paratyphi B	—	—	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G
B. paracoli Widal und Nobécourt	—	—	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G
B. paracoli St. Kuhn-Jaiser	S + G	—	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G
B. coli mutabile	S + G	—	S + G	S + G	S + G	—	S + G	S + G	S + G
B. coli comm. Pollak	S + G	—	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G
B. coli comm. Schnürer	—	—	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G
B. coli comm. 3	S + G	—	S + G	S + G	S + G	—	S + G	S + G	S + G
Stamm 14 Kaunitz und Trawiński	S + G	—	S + G	S + G	S + G	—	S + G	S + G	S + G
Schweinestamm 3 Trawiński	—	—	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G	—	S + G
Pferdestamm 12 Russ u. Trawiński	S + G	—	S + G	S + G	S + G	—	S + G	S + G	S + G

Bei den Stämmen, die Milch koagulieren, erfolgte die Gerinnung meist in den ersten 8 Tagen, jedoch begegnet man, besonders in der Gruppe III, zahlreichen Stämmen, die erst in der 2., sogar in der 3. Woche Milch zur Gerinnung brachten. Nach Feststellung der Koagulation wurde die betreffende Kultur auf Reinheit geprüft, wobei wir bei einzelnen Stämmen, die meist in den ersten 8 Tagen Milch schon zur Gerinnung brachten, auf Lackmus-Laktose-Agarplatten blaue und rote Kolonien gemischt gefunden haben. Auf diesen auffallenden Befund kommen wir weiter unten noch ausführlich zurück. Die Koagulation erfolgte, wie auch bei den Kontrollstämmen der echten Coli-Gruppe, in einer ganz kompakten Masse, allein das B. coli mutabile und B. paracoli „St. Kuhn-Jaiser“ zeigten eine flockige Gerinnung.

Die Milchkultur der Stämme, die Milch nicht zur Gerinnung brachten, wurden im Laufe der Untersuchung aufgehellt und zeigten gegen Lackmuspapier eine schwach alkalische Reaktion. Bloß die Vertreter der Gruppe I ließen die Milch vollständig unverändert, die Reaktion der Milch war nach Ablauf des Versuches amphoter.

Das Verhalten unserer Paracoli-Stämme in Lackmusmolke bot in den ersten 24 Std. eine gemeinsame Gesetzmäßigkeit. Lackmusmolke ist nämlich von sämtlichen untersuchten Stämmen in den ersten Stunden der Bebrütung mehr oder weniger gesäuert worden und zeigte dementsprechend eine ausgesprochene Rotfärbung (r), die dann aber im Laufe des Restes der ersten 24 Std. ins blaue umgeschlagen hat (b). Die Stämme 1 und 38 (Gruppe I) haben bei ihrer Herauszüchtung die Lackmusmolke nach einer kurzdauernden, anfänglichen Säuerung ebenfalls blau gefärbt. Beim Aufbewahren scheinen sie aber dieses Vermögen verloren zu haben, so daß wir bei der späteren Prüfung ihres Verhaltens in Lackmusmolke nach anfänglicher Säuerung keinen Umschlag ins blaue wahrnehmen konnten. Ueber ähnliche Stämme haben auch Russ und Trawiński (40) berichtet, denen es gelang, in Versuchen über Mäusepathogenität solcher Stämme dieselben bei der Sektion der Mäuse aus den inneren Organen wieder in ursprünglichem Zustand herauszuzüchten, so daß sie in Lackmusmolke nach der anfänglichen Säuerung innerhalb 24 Std. eine Alkalibildung, und somit einen Umschlag ins

Lävulose	Mannose	Galaktose	Saccharose	Laktose	Maltose	Raffinose	Dextrin	Inulin	Stärke	Inosit	Anmerkung
S + G	S + G	S + G	—	—	S + G	—	—	—	—	.	Entfärbung des Lackmusfarbstoffes bei sämtlichen untersucht. Zuckerarten
S + G	S + G	S + G	—	—	S + G	—	—	—	—	.	
S + G	S + G	S + G	—	—	S + G	—	—	—	—	.	
S + G	S + G	S + G	—	—	S + G	—	—	—	—	.	
S + G	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G	S	—	—	.	
S + G	S + G	S + G	—	S + G	S + G	—	S	—	—	.	
S + G	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G	S + G	S	—	—	.	
S + G	S + G	S + G	—	—	S + G	—	—	—	—	.	
S + G	S + G	S + G	—	—	S + C	—	—	—	—	.	
S + G	S + G	S + G	—	—	S + G	—	—	—	—	.	

blaue hervorgerufen haben. Diese Angaben der erwähnten Autoren konnten wir bei unseren Stämmen in ähnlichen Versuchen voll bestätigen.

Bei den Kontrollstämmen der engen, Laktose vergärenden Coli-Gruppe und beim B. coli mutabile, B. paracoli „St. Kuhn-Jaiser" behielt die Lackmusmolke nach der anfänglichen Säuerung ihre rote Farbe und zeigte keinen Umschlag ins blaue, während die übrigen angeführten Kontrollstämme sich unseren Paracoli-Bazillen ähnlich verhielten.

Wie den entsprechenden Rubriken der Tab. II zu entnehmen ist, zeigte sich zwischen den einzelnen Gruppen in den Lackmusmolkekulturen ein gewisser Unterschied, wenn wir dieselben 14 Tage bei 37° gehalten und täglich beobachtet haben. Während wir nämlich Gruppen fanden, bei deren Vertretern die Lackmusmolke nach dem ersten blauen Umschlag, welcher der anfänglichen Säuerung folgte, die blaue Farbe (Alkalität) behalten hat, haben wir bei anderen Gruppen einen Umschlag aus der blauen wiederum in die rote Farbe gefunden. Wenn wir dieses Verhalten mit dem Vermögen der Stämme, Milch zu koagulieren, vergleichen, so ergibt sich das höchst interessante Resultat, daß nur Stämme, die Milch koagulieren, in Lackmusmolke den zweimaligen Farbenwechsel, aus dem roten ins blaue und aus dem blauen wiederum ins rote, aufweisen. Die blaue Farbe der Lackmusmolke nach der kurzen, anfänglichen Säuerung bleibt nur bei Stämmen erhalten, die Milch nicht zur Gerinnung bringen. Sie verhalten sich also ähnlich den Paratyphus B-Bazillen, die Milch auch nicht koagulieren. Die Stämme 1 und 38 können, aus dem oben angeführten Grunde, für dieses Verhalten der Lackmusmolke nicht berücksichtigt werden. Eine einzige Ausnahme bildet dann nur der Stamm 56, der Milch koaguliert und bei dem die Lackmusmolke nach der anfänglichen Säuerung den Umschlag ins blaue auch noch nach 14 Tagen aufweist. Die übrigen Stämme bestätigen aber die obige Beobachtung, so daß wir die Milchkoagulation, trotz dieser Ausnahme, mit dem oben geschilderten Verhalten der Lackmusmolkekulturen parallel setzen.

Die genaue, auf Wochen ausgedehnte Beobachtung der Reinkulturen unserer Stämme ergab die interessante Tatsache, daß bei der

Tabelle II.

Gruppe	Stamm	Milchkultur	Lackmusmolke nach															Knopf-bildung
			5 Std.	1 T	2 T	3 T	4 T	5 T	6 T	7 T	8 T	9 T	10 T	11 T	12 T	13 T	14 T	
I	Stamm 1	—	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	+
	„ 38	—	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	+
II	Stamm 3	—	r	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	—
	„ 6	—	r	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	—
	„ 13	—	r	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	—
	„ 23	—	r	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	—
	„ 43	—	r	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	—
	„ 44	—	r	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	—
III	Stamm 7	koag. nach 16 T	r	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	r	r	r	+
	„ 14	koag. nach 20 T	r	b	b	b	b	b	b	r	r	r	r	r	r	r	r	+
	„ 22	koag. nach 5 T	r	b	b	b	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	+
	„ 26	koag. nach 6 T	r	b	b	b	b	b	r	r	r	r	r	r	r	r	r	+
	„ 34	koag. nach 16 T	r	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	r	r	r	r	+
	„ 50	koag. nach 18 T	r	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	r	r	r	r	+
	„ 54	koag. nach 15 T	r	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	r	r	r	r	+
	„ 57	koag. nach 6 T	r	b	b	b	b	b	r	r	r	r	r	r	r	r	r	+
	„ 58	koag. nach 14 T	r	b	b	b	b	b	b	b	r	r	r	r	r	r	r	+
	„ 63	koag. nach 11 T	r	b	b	b	b	b	b	b	b	r	r	r	r	r	r	+
	„ 66	koag. nach 12 T	r	b	b	b	b	b	b	b	b	r	r	r	r	r	r	+
IV	Stamm 5	koag. nach 4 T	r	b	b	b	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	+
	„ 9	koag. nach 7 T	r	b	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	+
	„ 15	koag. nach 4 T	r	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	r	r	r	r	+
	„ 19	koag. nach 10 T	r	b	b	b	b	b	r	r	r	r	r	r	r	r	r	+
	„ 33	koag. nach 10 T	r	b	b	b	b	b	b	b	b	r	r	r	r	r	r	+
	„ 46	koag. nach 8 T	r	b	b	b	b	b	b	r	r	r	r	r	r	r	r	+
	„ 51	koag. nach 7 T	r	b	b	b	b	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	+
	„ 55	koag. nach 7 T	r	b	b	b	b	b	b	b	b	r	r	r	r	r	r	+
	„ 62	koag. nach 8 T	r	b	b	b	b	b	b	r	r	r	r	r	r	r	r	+

V	Stamm 24	koag. nach 7 T	r	b	b	b	b	b	b	b	b	r	r	r	r	r	r	+
	„ 25	koag. nach 6 T	r	b	b	b	b	b	b	b	b	b	r	r	r	r	r	+
	„ 39	koag. nach 18 T	r	r	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	r	r	+
	„ 40	koag. nach 5 T	r	b	b	b	b	b	b	r	r	r	r	r	r	r	r	+
	„ 45	koag. nach 5 T	r	b	b	b	b	b	b	b	b	b	r	r	r	r	r	+
VI	Stamm 4	—	r	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	—
VII	Stamm 16	—	r	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	—
VIII	Stamm 20	koag. nach 12 T	r	b	b	b	b	b	b	b	r	r	r	r	r	r	r	+
IX	Stamm 28	koag. nach 9 T	r	b	b	b	b	b	r	r	r	r	r	r	r	r	r	+
X	Stamm 29	koag. nach 7 T	r	b	b	b	b	b	b	b	b	r	r	r	r	r	r	+
XI	Stamm 30	koag. nach 5 T	r	b	b	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	—
XII	Stamm 32	koag. nach 5 T	r	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	r	r	r	+
XIII	Stamm 35	—	r	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	—
XIV	Stamm 41	koag. nach 5 T	r	b	b	b	b	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	+
XV	Stamm 42	koag. nach 13 T	r	b	b	b	b	b	b	r	r	r	r	r	r	r	r	+
XVI	Stamm 49	koag. nach 8 T	r	b	b	b	b	b	b	r	r	r	r	r	r	r	r	+
	„ 60	koag. nach 9 T	r	b	b	b	b	b	b	r	r	r	r	r	r	r	r	+
XVII	Stamm 52	—	r	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	—
	„ 53	—	r	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	—
XVIII	Stamm 56	koag. nach 5 T	r	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	+
XIX	Stamm 59	—	r	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	—
XX	Stamm 61	—	r	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	—
.	B. paratyphi B	—	r	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	—
.	B. paracoli Widal	—	r	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	—
.	B. paracoli Kuhn-Jaiser	koag. nach 16 T	b	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	+
.	B. coli mutabile	koag. nach 19 T	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	+
.	B. coli comm. Pollak	kaaguliert	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	—
.	B. coli comm. Schnürer	koaguliert	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	—
.	B. coli comm. 3	koaguliert	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	—
.	Stamm 14 Kaunitz-Trawiński	koaguliert	r	b	b	b	b	b	b	r	r	r	r	r	r	r	r	+

Mehrzahl der Stämme auf Lackmus-Laktose-Agarplatten eine Knopfbildung festgestellt werden konnte. Unter dieser Eigenschaft verstehen wir das Auftreten von kleinen, rundlichen, weißen Gebilden an den einzelnen Kolonien auf Lackmus-Laktose-Agarplatten, falls die Kolonien nicht sehr dicht beieinander stehen und die Kultur mindestens 2 Tage alt ist. Massini (18) beschreibt in seiner Arbeit über das Bact. coli mutabile ausführlich die Entstehung von solchen Knöpfen, Tochterkolonien, welche „die in biologischer Beziehung interessante Eigenschaft" besitzen, auf Lackmus-Laktose-Agarplatten blaue und rote Kolonien zu bilden. Ihr charakteristisches Merkmal — das Vermögen, Laktose nicht abzubauen — haben sie also in den Knöpfen geändert, indem die Mutterkolonie in den Tochterkolonien eine Varietät (Massini) zur Entstehung bringt, die schon Laktose zu spalten vermag. Je genauer man die Tochterkolonien abimpft, desto größer wird die Zahl der roten Kolonien, die auf der neuen Lackmus-Laktose-Agarplatte aufgehen. Reinkulturen von der roten Varietät erreicht man, wenn man bloß die Bazillen abimpft, die den Knopf bilden. Dieser Umstand ist beweisend dafür, daß die Knöpfe, die Tochterkolonien von den Mutterkolonien in biologischer Beziehung, in bezug auf das Spaltungsvermögen gegenüber dem Milchzucker streng zu unterscheiden sind. Die rote Varietät bildet in Reinkulturen keine Knöpfe mehr, dagegen erscheint in den Reinkulturen der blauen Varietät in allen Generationen die erwähnte Knopfbildung. R. Müller (46, 47), der nach Massini die Entstehung von solchen Tochterkolonien nicht nur bei ähnlichen „atypischen" Coli-Stämmen, wie das Bact. coli mutabile von Massini, sondern auch bei Typhusbazillen auf Isodulzit (Rhamnose)-Agar und bei Paratyphus B-Bazillen auf Raffinoseagar bestätigen konnte, erklärt die Eigenschaft der Knopfbildung für eine Mutation im Sinne De Vries'. Eine noch bis zum heutigen Tage nicht abgeschlossene Diskussion knüpfte sich an die Fragestellung, ob man es in der Entstehung der Tochterkolonien, die eine neue Eigenschaft aufweisen, mit einer Mutation im Sinne De Vries' oder bloß mit einer Variation zu tun hat. Ohne uns auf diesen Streit, dessen Lösung mehr ein rein biologisches Interesse hat, einzugehen, stellen wir nur die Tatsache fest, daß alle Autoren, die über dieses Thema gearbeitet haben, die ersten Angaben von Massini bestätigen konnten [Burk (19), Sauerbeck (20), Bernhardt und Wl. N. Markoff (48), Baerthlein (22, 23) u. a.]. Kowalenko (21) gelang es auch, bei sicheren Reinkulturen, die aus einer einzelnen Zelle nach dem Burrischen Tuscheverfahren gezüchtet worden sind, die Bildung von Knöpfen, von Laktose spaltenden Tochterkolonien beim Bact. coli mutabile nachzuweisen, so daß dem Einwande, das Phänomen könnte auf Verunreinigungen zurückgeführt werden, jede Grundlage entzogen wurde.

Die Entstehung von Knöpfen bei der Mehrzahl unserer Reinkulturen auf Lackmus-Laktose-Agarplatten haben wir auf die Bildung von solchen, Laktose spaltenden Tochterkolonien zurückgeführt. In unserer Vermutung sind wir durch die Abimpfung von solchen Knöpfen bestärkt worden, indem wir tatsächlich rote Kolonien beobachten konnten, die erwiesenermaßen aus der abgeimpften Tochterkolonie hervorgegangen sind. Die Reinkulturen unserer Stämme haben wir über 4 Wochen bei Zimmertemperatur beobachtet, und erst dann, wenn sie auch nach dieser Zeit keine Knöpfe aufwiesen, haben wir ihnen die Fähigkeit, Laktose vergärende („mutierte") Tochterkolonien zu bilden, abgesprochen. In der 3. Rubrik der Tab. II haben wir die Ergebnisse unserer diesbezüglichen Versuche zusammengestellt. Der Zeitpunkt des Auftretens der Tochterkolonien ist verschieden; meist begegnet man erst vom 4.—7. Tage an gut entwickelten Knöpfen, wenn auch bei manchen Stämmen, besonders mit Lupenvergrößerung, schon früher Knöpfe nachgewiesen werden können. Die Zahl der Knöpfe ist bei den verschiedenen Stämmen verschieden, ebenso die Größe der einzelnen Knöpfe. Bei demselben Stamm zeigt aber Zahl und Größe der Knöpfe eine auffallende Konstanz; trotzdem kann eine Differenzierung der einzelnen knopfbildenden Stämme nach diesen Eigenschaften nicht durchgeführt werden, da die notwendige Mannigfaltigkeit derselben fehlte. Der Stamm 32 bot ein besonders charakteristisches Aussehen, indem die Kolonien desselben wie mit Zuckerpulver bestreut, dicht nebeneinander gelagerte, ganz kleine, weiße Knöpfe aufwiesen. Der Stamm 5 zeigte schleimig-glasige Tochterkolonien. Die Knöpfe waren in den ersten Tagen weiß, haben sich aber bei den meisten Stämmen im Laufe der Beobachtung braun-rötlich gefärbt.

Wenn wir die Knopfbildung mit den Milchkulturen und mit dem Verhalten der Stämme in Lackmusmolke vergleichen, so kann die Regel, die wir oben für die Milchkulturen und die Lackmusmolke aufgestellt haben, auch auf die Knopfbildung ausgedehnt werden, indem Stämme, die Milch zur Gerinnung bringen, nicht nur den oben ausführlich beschriebenen zweimaligen Farbenwechsel in Lackmusmolke aufweisen, sondern auf Lackmus-Laktose-Agarplatten Milchzucker spaltende Tochterkolonien zu bilden vermögen. Von dieser Regel müßten hier auch 2 Ausnahmen gemacht werden. Die eine betrifft Gruppe I, deren Stämme Milch nicht koagulieren und trotzdem Knöpfe bilden. Da dieselben auch in der Lackmusmolke von der Regel abweichendes Verhalten zeigten, können sie hier nicht berücksichtigt werden. Die 2. Ausnahme bleibt der Stamm 30, der Milch koagullert, dagegen keine Knopfbildung aufweist. Es bleibt aber dahingestellt, ob die Knöpfe bei längerer Ausdehnung der Beobachtung vielleicht doch zum Vorschein gekommen wären, zumal das Verhalten des Stammes in Lackmusmolke die obige Regel bestätigt. Der Stamm 56, der durch sein Verhalten in der Lackmusmolke von obiger Regel eine Ausnahme bildete, zeigt Knopfbildung, entsprechend seinem Vermögen, Milch zu koagulieren. Bei den Kontrollstämmen, die Milch koagulieren, und auf Lackmus-Laktose-Agarplatten blau wachsen — B. coli mutabile, B. paracoli „St. Kuhn-Jaiser“ und Stamm 14 „Kaunitz und Trawiński“ — konnte die Entstehung von Milchzucker spaltenden Tochterkolonien ebenfalls festgestellt werden.

Das Ergebnis unserer obigen Versuche können wir kurz dahin zusammenfassen, daß die Milchgerinnung bei Stämmen, die ursprünglich Laktose nicht zu spalten vermögen, durch das Auftreten von („mutierten“) Tochterkolonien, die Milchzucker spaltende Fermente enthalten, bedingt wird. Daß die Lackmusmolke nach dem ersten blauen Umschlag bei Stämmen, die eine Knopfbildung im oben beschriebenen Sinne zeigen, wieder gesäuert, d. h. rot gefärbt wird, beweist ebenfalls das Auftreten von Laktose unter Säurebildung vergärenden Fermenten. Die geringe Ausnahme von dieser Regel kann durch ein verschiedenes Verhalten der betreffenden

Stämme erklärt werden. Die überwiegende Mehrheit unserer Stämme beweist jedenfalls im allgemeinen unsere obige Annahme.

Zur Prüfung der Indolbildung wurden die Kulturen in Tryptophanlösung[1]) nach Zipfel (41) (Tryptophan 0,3 + Ammon. lact. 5 + Kal. phosphor. 5 + Magn. phosphor. 0,3 g auf 1 l Wasser) und in einer 4-proz. Peptonlösung angelegt und im Thermostat bei 37° bebrütet. Kulturen, die an den ersten 2 Tagen keine Indolbildung zeigten, sind in 7 bzw. 14 Tagen neuerlichen Prüfungen unterzogen worden. Die Prüfung auf den Indolgehalt erfolgte nach der Ehrlichschen Methode (41), die in die Bakteriologie durch Haenen (50) im Jahre 1905 eingeführt wurde. Die Stammlösungen sind nach Böhme (51) hergestellt worden, zur Ausschüttelung kam nur Chloroform in Verwendung, da Amylalkohol mit dem Ehrlichschen p.-Dimethylamidobenzaldehyd allein schon eine rotviolette Färbung ergibt.

In Tab. III haben wir die Resultate der Indolprüfung in den Tryptophankulturen zusammengestellt. Fast sämtliche Stämme haben schon in den ersten 24 Stunden Indol gebildet, bei den Stämmen 29 und 32 wird die Indolreaktion erst am 2. Tage in Spuren positiv; sie verstärkt

Tabelle III.

Gruppe	Stamm	Indolbildung nach			
		1 T	2 T	7 T	14 T
I	Stamm 1	—	—	—	—
	„ 38	—	—	—	—
II	Stamm 3	+			
	„ 6	+			
	„ 13	+			
	„ 23	+			
	„ 43	+			
	„ 44	+			
III	Stamm 7	+			
	„ 14	+			
	„ 22	+			
	„ 26	+			
	„ 34	+			
	„ 50	+			
	„ 54	+			
	„ 57	+			
	„ 58	+			
	„ 63	+			
	„ 66	+			
IV	Stamm 5	+			
	„ 9	+			
	„ 15	+			
	„ 19	+			
	„ 33	+			
	„ 46	+			
	„ 51	+			
	„ 55	+			
	„ 62	+			
V	Stamm 24	+			
	„ 25	+			
	„ 39	+			
	„ 40	+			
	„ 45	+			

Gruppe	Stamm	Indolbildung			
		1 T	2 T	7 T	1
VI	Stamm 4	+			
VII	Stamm 16	+			
VIII	Stamm 20	+			
IX	Stamm 28	+			
X	Stamm 29	—	Sp.	Sp.	S
XI	Stamm 30	+			
XII	Stamm 32	—	Sp.	+	+
XIII	Stamm 35	+			
XIV	Stamm 41	+			
XV	Stamm 42	+			
XVI	Stamm 49	+			
	„ 60	+			
XVII	Stamm 52	+			
	„ 53	+			
XVIII	Stamm 56	+			
XIX	Stamm 59	+			
XX	Stamm 61	+			
.	B. paratyphi B	—	—	—	—
.	B. paracoli Widal	—	—	—	—
.	B. paracoli Kuhn-Jaiser	—	—	—	—
.	B. coli mutabile	—	—	—	—
.	B. coli comm. Pollak	+			
.	B. coli comm. Schnürer	+			
.	B. coli comm. 3	+			
.	Stamm 14 Kaunitz-Trawiński	+			
.	Schweinestamm 3 Trawiński	+			
.	Pferdestamm 12 Russ u. Trawiński	—	—	—	—

---

[1]) Unsere noch nicht veröffentlichten Versuche, die wir im Institut de Thérapeutique, d'Hygiène et de Bactériologie in Brüssel im Jahre 1914 ausgeführt haben, konnten unter anderen die Angaben von Zipfel bestätigen, indem wir auch nachweisen konnten, daß die Indolbildung der Coli-Bazillen durch das Vorhandensein von Tryptophan im Nährboden bedingt ist.

sich beim Stamm 32; der Stamm 29 weist dagegen auch nach 14 Tagen eine sehr schwache Indolbildung auf. Gruppe I bildet auch nach Ablauf von 14 Tagen kein Indol, ebenso wie unter den Kontrollstämmen der B. paratyphi B, B. paracoli „Widal und Nobécourt“, B. paracoli „St. Kuhn-Jaiser“, B. coli mutabile und der Pferdestamm 12 Russ und Trawiński.

Die Fähigkeit, Indol zu bilden, konnte bei unseren Paracoli-Stämmen als differentialdiagnostisches Merkmal nicht in Betracht gezogen werden.

IV. Serologisches Verhalten der geprüften Stämme.

a) Agglutinationsversuche.

Zur Agglutination verwendeten wir, wie oben schon erwähnt, teils bezogene, teils von uns hergestellte Kaninchenimmunsera. Die Herstellung von Immunseris war bei den meisten untersuchten Stämmen sehr schwierig, da denselben die Fähigkeit, Agglutinine zu bilden, oft eingeschränkt war, oder auch vollständig fehlte. Schon Massini (18) und nach ihm Burk (19) haben betont, wie schwierig es ist, gegen das Bact. coli mutabile beim Kaninchen durch fortgesetzte Immunisierung einen auch nur geringen Agglutinationstiter zu erreichen. Burk (1) und Vallet u. Rimbaud (52) konnten auch bei B. coli comm., bzw. bei Paracoli-Bazillen die Schwierigkeit, agglutinierende Immunsera herzustellen, hervorheben. Wenn bei einigen unserer Stämme schon eine 2-malige Immunisierung mit kleinen Dosen bei 60° abgetöteten Bazillen genügte, den gewünschten Titer zu erreichen, so war bei der Mehrzahl der zur Immunisierung angewendeten Bazillen eine viel längere Prozedur notwendig, um zu einem entsprechend hohen Agglutinationstiter zu gelangen. So mußten die meisten Stämme 4—5mal, und noch mehr, nicht nur abgetötet, sondern lebend, wenn auch durch kurzdauernde Erhitzung bei 60° mäßig abgeschwächt, aber auch unabgeschwächt ohne vorherige Erhitzung, den Kaninchen intravenös injiziert werden, um Immunsera zu gewinnen, die Agglutinine in der nötigen minimalen Konzentration aufweisen. Bei vielen Stämmen scheiterte die Herstellung von Immunseris vollständig. So konnten wir mit den Stämmen 13, 19, 29, 39, 42, 49, 63 und mit dem Bact. coli mutabile auch nicht den Agglutinationstiter erreichen, der für unsere Versuche das Minimum bildete. Die lange Dauer der Immunisierung erklärt uns zur Genüge die Tatsache, daß die Kaninchen im Laufe derselben meist hochgradig abgemagert sind, und daß eine verhältnismäßig hohe Prozentzahl der Kaninchen zugrunde gegangen sind (besonders im Winter bei den schlechten Futterverhältnissen), bevor noch die Immunisierung beendet war. Gemäß solchen Umständen mußten wir verzichten, mit allen unseren Stämmen Immunseren herzustellen. Die so entstandene Lücke in der Reihe der Agglutinationsversuche ist aber nicht so groß, um auf Grund der angeführten Versuche nicht zu gewissen Schlüssen gelangen zu können.

Die Agglutination erfolgte stets makroskopisch mit zahlreichen Serumverdünnungen bis zur Titergrenze, die in einem Vorversuche genau festgestellt wurde. Die Emulsion wurde mit 20-stündigen, bei 37° bebrüteten Schrägagarkulturen durch Aufschwemmung in physiol. (0,85-proz.) Kochsalzlösung bei jedem Versuch frisch hergestellt. $^1/_2$ ccm der betreffenden Serumverdünnung wurde mit $^1/_2$ ccm der Bakterienaufschwemmung in Röhrchen gefüllt, die Röhrchen durch 2 Std. bei 37° im Thermostaten gehalten und dann nach Belassen durch 16—18 Std. bei Zimmertemperatur abgelesen.

Die komplette Agglutination mit vollständiger Klärung der Flüssigkeit über dem sedimentierten Bakterienhaufen, haben wir mit +, die inkomplette Agglutination, bei welcher es zwar zu deutlicher Bildung von Bodensatz kommt, jedoch die darüberliegende Flüssigkeit noch trüb ist, mit ± bezeichnet. Unter Sp. verstehen wir Spuren von Agglutination, bei welcher die ausgefallenen Flocken sich nicht sedimentieren, sondern in der trüben Flüssigkeit verteilt und oft nur unter Lupenvergrößerung zu beobachten sind.

Die nahe Verwandtschaft unserer Paracoli-Stämme mit den Paratyphusbazillen wollten wir in Versuchen feststellen, in welchen wir agglutinierende Paratyphus A- und B-, Enteritis Gärtner-Immunsera auf unsere Stämme einwirken ließen.

Aus den Tab. IV, V und VI ist leicht zu ersehen, daß verwandtschaftliche Beziehungen zwischen unseren Paracoli-Stämmen und den Vertretern der Paratyphus Gärtner-Gruppe (Paratyphus A und B, Enteritis Gärtner) in bezug auf die Agglutination nicht abgeleitet werden können. Durch Enteritis Gärtner-Serum zeigen unsere Stämme nicht die geringste Agglutination; bei Verwendung des Paratyphus A- und besonders des Paratyphus B-Serums, begegnet man niedriger und teilweise auch etwas höherer Mitagglutination einiger Paracoli-Stämme. Bemerkenswert ist der Umstand, daß nicht alle Vertreter einer Gruppe gleichmäßig mitagglutiniert werden; es gibt Stämme in derselben Gruppe. die überhaupt nicht beeinflußt werden, wieder andere, die durch dasselbe Serum in ziemlich hoher Verdünnung, so beim Paratyphus A-Serum der Stamm 55 und beim Paratyphus B-Serum die Stämme 22, 51 u. a. bis $^1/_{10}$ des Titers ausgeflockt, d. h. mitagglutiniert werden. Das verschiedene agglutinatorische Verhalten, wenn auch nur in bezug auf die Mitagglutination der Stämme derselben Gruppe, könnte in uns den Verdacht erwecken, daß die durch gleiche Kulturmerkmale aufgestellten Gruppen agglutinatorisch noch in Untergruppen zerfallen.

Die Agglutination der Kontrollstämme durch das Paratyphus B-Serum bietet für die schon oben erwähnte Tatsache, daß der B. paracoli „Widal und Nobécourt“ mit dem B. paratyphi B identisch ist, eine weitere feste Stütze, indem der B. paracoli „Widal u. Nobécourt“ durch das Paratyphus B-Serum bis zur Titergrenze eine starke Agglutination zeigt.

Mit der Dysenteriegruppe zeigen unsere Paracoli-Stämme ebenfalls keine verwandtschaftlichen Beziehungen (Tab. VII u. VIII). Nur einzelne Stämme werden durch das agglutinierende Shiga-Kruse-Serum wenig mitagglutiniert. Das Flexner-Serum läßt beinahe sämtliche Stämme unbeeinflußt.

Bei Verwendung des mit dem B. paracoli „St. Kuhn-Jaiser“ hergestellten Serums läßt sich im allgemeinen weder bei unseren, noch bei den Kontrollstämmen eine Agglutination nachweisen, bloß bei den Stämmen 28 und 56 und unter den Kontrollstämmen beim B. dysenteriae (Typus Flexner) konnte in der ersten Verdünnung eine unbedeutende Mitagglutination beobachtet werden (Tab. IX).

Das mit dem Schweinestamm 3 „Trawiński“ hergestellte Immunserum agglutiniert die meisten Stämme, aber nur unbedeutend, in den ersten Verdünnungen, mit [1] (Tab. X).

Tab. XI beweist, daß das mit dem Pferdestamm 12 „Russ-Trawiński“ hergestellte Immunserum nur einzelne Stämme unbedeutend

---

[1] Wegen höherer Agglutination der Kontrollstämme von der Paratyphus B-Gruppe vgl. die Originalarbeit von Trawiński (l. c.).

Tabelle IV.

Paratyphus A-Kaninchenserum (Titer 1:8000).

Gruppe	Stamm	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1000	1:2000	1:4000	1:8000
I	Stamm 1	±	Sp.						
	„ 38	±							
II	Stamm 3	—	—						
	„ 6	—	—						
	„ 13	—	—						
	„ 23	—	—						
	„ 43	—	—						
	„ 44	—	—						
III	Stamm 7	—	—						
	„ 14	Sp.							
	„ 22	±	Sp.						
	„ 26	—	—						
	„ 34	Sp.							
	„ 50	—	—						
	„ 54	—	—						
	„ 57	—	—						
	„ 58	—	—						
	„ 63	Sp.							
IV	Stamm 5	—	—						
	„ 9	—	—						
	„ 15	—	—						
	„ 19	Sp.							
	„ 33	±							
	„ 46	±							
	„ 51	±							
	„ 55	±	±	±	Sp.				
	„ 62	—	—						
V	Stamm 24	—	—						
	„ 25	—	—						
	„ 39	—	—						
	„ 40	—	—						
	„ 45	—	—						
VI	Stamm 4	—	—						
VII	Stamm 16	—	—						
VIII	Stamm 20	—	—						
IX	Stamm 28	—	—						
X	Stamm 29	—	—						
XI	Stamm 30	±	Sp.						
XII	Stamm 32	—	—						
XIII	Stamm 35	—	—						
XIV	Stamm 41	—	—						
XV	Stamm 42	Sp.							
XVI	Stamm 49	±							
	„ 60	—	—						
XVII	Stamm 52	—	—						
XVIII	Stamm 56	Sp.							
XIX	Stamm 59	Sp.	Sp.						
XX	Stamm 61	—	—						
.	Bac. paratyphi A	+	+	+	+	+	+	+	+
.	B. paratyphi B	+	+	±	Sp.				
.	B. paracol. St. Kuhn-Jais.	±	Sp.						
.	B. coli mutabile	—	—						
.	B. coli comm. Pollak	—	—						
.	B. coli comm. Schnürer	—	—						
.	B. coli comm. 3	—	—						

Tabelle V.
Paratyphus B-Kaninchenserum (Titer 1:8000).

Gruppe	Stamm	1 : 100	1 : 200	1 : 400	1 : 800	1 : 1000	1 : 2000	1 : 4000	1 : 8000
I	Stamm 1	+	+	±	Sp.				
	„ 38	+	+	±					
II	Stamm 3	—	—						
	„ 6	—	—						
	„ 13	—	—						
	„ 23	—	—						
	„ 43	—	—						
	„ 44	—	—						
III	Stamm 7	—	—						
	„ 14	—	—						
	„ 22	+	±	±	±				
	„ 26	±							
	„ 34	±	Sp.						
	„ 50	—	—						
	„ 54	—	—						
	„ 57	—	—						
	„ 58	—	—						
	„ 63	—	—						
IV	Stamm 5	—	—						
	„ 9	—	—						
	„ 15	—	—						
	„ 19	±	±	Sp.					
	„ 33	—	—						
	„ 46	+	+	±					
	„ 51	+	±	±	Sp.				
	„ 55	—	—						
	„ 62	±	Sp.						
V	Stamm 24	±	±	±	Sp.				
	„ 25	±							
	„ 39	±							
	„ 40	±	±						
	„ 45	±							
VI	Stamm 4	—	—						
VII	Stamm 16	—	—						
VIII	Stamm 20	—	—						
IX	Stamm 28	—	—						
X	Stamm 29	—	—						
XI	Stamm 30	±	±						
XII	Stamm 32	—	—						
XIII	Stamm 35	—	—						
XIV	Stamm 41	—	—						
XV	Stamm 42	—	—						
XVI	Stamm 49	—	—						
	„ 60	—	—						
XVII	Stamm 52	—	—						
XVIII	Stamm 56	—	—						
XIX	Stamm 59	±	±						
XX	Stamm 61	—	—						
.	B. paratyphi B	+	+	+	+	+	+	±	±
.	B. paracoli Widal	+	+	+	+	+	+	±	±
.	B. paracol.St.Kuhn-Jais.	+	+	±	±				
.	B. coli mutabile	—	—						
.	B. coli comm. Pollak	±	Sp.						
.	B. coli comm. Schnürer	±	±	Sp.					
.	B. coli comm. 3	—	—						
.	B. dysenter. Shiga-Flex.	+	±						
.	B. dysenteriae Flexner	+	±	±					

Tabelle VI.

Enteritis Gärtner-Serum (Titer 1:20000).

Gruppe	Stamm	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1000	1:2000	1:4000	1:8000	1:10 000	1:20 000
I	Stamm 1	—	—								
	„ 38	—	—								
II	Stamm 3	—	—								
	„ 6	—	—								
	„ 13	—	—								
	„ 23	—	—								
	„ 43	—	—								
	„ 44	—	—								
III	Stamm 7	—	—								
	„ 14	—	—								
	„ 22	—	—								
	„ 26	—	—								
	„ 34	—	—								
	„ 50	—	—								
	„ 54	—	—								
	„ 57	—	—								
	„ 58	—	—								
	„ 63	—	—								
IV	Stamm 5	—	—								
	„ 9	—	—								
	„ 15	—	—								
	„ 19	—	—								
	„ 33	—	—								
	„ 46	—	—								
	„ 51	—	—								
	„ 55	—	—								
	„ 62	—	—								
V	Stamm 24	—	—								
	„ 25	—	—								
	„ 39	—	—								
	„ 40	—	—								
	„ 45	—	—								
VI	Stamm 4	—	—								
VII	Stamm 16	—	—								
VIII	Stamm 20	—	—								
IX	Stamm 28	—	—								
X	Stamm 29	—	—								
XI	Stamm 30	—	—								
XII	Stamm 32	—	—								
XIII	Stamm 35	—	—								
XIV	Stamm 41	—	—								
XV	Stamm 42	—	—								
XVI	Stamm 49	—	—								
	„ 60	—	—								
XVII	Stamm 52	—	—								
XVIII	Stamm 56	—	—								
XIX	Stamm 59	—	—								
XX	Stamm 61	—	—								
.	B. paratyphi B	±	Sp.								
.	B. paracoli Widal	+	Sp.								
.	B. enteritidis Gärtner	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±
.	B. paracol.St.Kuhn-Jais.	—	—								
.	B. coli mutabile	—	—								
.	B. coli comm. Pollak	—	—								
.	B. coli comm. Schnürer	—	—								
.	B. coli comm. 3	—	—								

Tabelle VII.

B. dysenteriae (Shiga-Kruse)-Serum (Titer 1:6000).

Gruppe	Stamm	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1000	1:2000	1:4000	1:6000
I	Stamm 1	±	±						
	,, 38	±	±						
II	Stamm 3	±	±						
	,, 6	±							
	,, 13	±	Sp.						
	,, 23	—	—						
	,, 43	±							
	,, 44	—	—						
III	Stamm 7	±							
	,, 14	—	—						
	,, 22	±	±						
	,, 26	—	—						
	,, 34	±							
	,, 50	—	—						
	,, 54	—	—						
	,, 57	—	—						
	,, 58	—	—						
	,, 63	—	—						
IV	Stamm 5	—	—						
	,, 9	±	±	±					
	,, 15	Sp.							
	,, 19	±	±	Sp.					
	,, 33	—	—						
	,, 46	+	±						
	,, 51	±	±	Sp.					
	,, 55	—	—						
	,, 62	±	Sp.						
V	Stamm 24	—	—						
	,, 25	Sp.	Sp.						
	,, 39	±							
	,, 40	—	—						
	,, 45	—	—						
VI	Stamm 4	—	—						
VII	Stamm 16	—	—						
VIII	Stamm 20	—	—						
IX	Stamm 28	Sp.							
X	Stamm 29	—	—						
XI	Stamm 30	±							
XII	Stamm 32	—	—						
XIII	Stamm 35	—	—						
XIV	Stamm 41	—	—						
XV	Stamm 42	Sp.							
XVI	Stamm 49	±	Sp.						
	,, 60	—	—						
XVII	Stamm 52	—	—						
XVIII	Stamm 56	—	—						
XIX	Stamm 59	±	Sp.						
XX	Stamm 61	—	—						
.	B. paratyphi B	—	—						
.	B. paracoli Widal	—	—						
.	B. paracoli St. Kuhn-Jaiser	±	Sp.						
.	B. coli mutabile	—	—						
.	B. coli comm. Pollak	—	—						
.	B. coli comm. Schnürer	—	—						
.	B. coli comm. 3	—	—						
.	B. dysenteriae Shig.-Kr.	+	+	+	+	+	+	+	+
.	B. dysenteriae Flexner	+	+	Sp.					

Tabelle VIII. B. dysenteriae (Flexner)-Serum (Titer 1:8000).

Gruppe	Stamm	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1000	1:2000	1:4000	1:8000
I	Stamm 1	—	—						
	" 38	—	—						
II	Stamm 3	—	—						
	" 6	—	—						
	" 13	—	—						
	" 23	—	—						
	" 43	—	—						
	" 44	—	—						
III	Stamm 7	—	—						
	" 14	—	—						
	" 22	±	—						
	" 26	—	—						
	" 34	—	—						
	" 50	—	—						
	" 54	—	—						
	" 57	—	—						
	" 58	—	—						
	" 63	—	—						
	" 66	±							
IV	Stamm 5	—	—						
	" 9	—	—						
	" 15	—	—						
	" 19	—	—						
	" 33	±							
	" 46	Sp.							
	" 51	±	±						
	" 55	—	—						
	" 62	—	—						
V	Stamm 24	—	—						
	" 25	—	—						
	" 39	—	—						
	" 40	—	—						
	" 45	—	—						
VI	Stamm 4	—	—						
VII	Stamm 16	—	—						
VIII	Stamm 20	—	—						
IX	Stamm 28	—	—						
X	Stamm 29	—	—						
XI	Stamm 30	—	—						
XII	Stamm 32	—	—						
XIII	Stamm 35	—	—						
XIV	Stamm 41	—	—						
XV	Stamm 42	—	—						
XVI	Stamm 49	±	±						
	" 60	—	—						
XVII	Stamm 52	—	—						
XVIII	Stamm 56	—	—						
XIX	Stamm 59	—	—						
XX	Stamm 61	—	—						
.	B. paratyphi B	—	—						
.	B. paracoli Widal	—	—						
.	B. paracoli St. Kuhn-Jaiser	—	—						
.	B. coli mutabile	—	—						
.	B. coli comm. Pollak	—	—						
.	B. coli comm. Schnürer	—	—						
.	B. coli comm. 3	—	—						
.	B. dysenteriae Flexner	+	+	+	+	+	+	±	±
.	B. dysenteriae Shig.-Kr.	—	—						

Tab. IX. B. paracoli (St. „Kuhn-Jaiser“)-Kaninchenserum (Titer 1:12000

Gruppe	Stamm	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1000	1:2000	1:4000	1:6000	1:8000	1:10000	1:12000
I	Stamm 1	—	—									
	,, 38	—	—									
II	Stamm 3	—	—									
	,, 6	—	—									
	,, 13	—	—									
	,, 23	—	—									
	,, 43	—	—									
	,, 44	—	—									
III	Stamm 7	—	—									
	,, 14	—	—									
	,, 22	—	—									
	,, 26	—	—									
	,, 34	—	—									
	,, 50	—	—									
	,, 54	—	—									
	,, 57	—	—									
	,, 58	—	—									
	,, 63	—	—									
IV	Stamm 5	—	—									
	,, 9	—	—									
	,, 15	—	—									
	,, 19	—	—									
	,, 33	—	—									
	,, 46	—	—									
	,, 51	—	—									
	,, 55	—	—									
	,, 62	—	—									
V	Stamm 24	—	—									
	,, 25	—	—									
	,, 39	—	—									
	,, 40	—	—									
	,, 45	—	—									
VI	Stamm 4	—	—									
VII	Stamm 16	—	—									
VIII	Stamm 20	—	—									
IX	Stamm 28	Sp.										
X	Stamm 29	—	—									
XI	Stamm 30	—	—									
XII	Stamm 32	—	—									
XIII	Stamm 35	—	—									
XIV	Stamm 41	—	—									
XV	Stamm 42	—	—									
XVI	Stamm 49	—	—									
	,, 60	—	—									
XVII	Stamm 52	—	—									
XVIII	Stamm 56	Sp.										
XIX	Stamm 59	—	—									
XX	Stamm 61	—	—									
.	B. paratyphi B	—	—									
.	B. paracoli Widal	—	—									
.	B. paracol. St. Kuhn-Jais.	+	+	+	+	+	+	±	±	±	±	±
.	B. coli mutabile	—	—									
.	B. coli comm. Pollak	—	—									
.	B. coli comm. Schnürer	—	—									
.	B. coli comm. 3	—	—									
.	B. dysenteriae Flexner	±										
.	B. dysenter. Shig.-Kr.	—	—									
.	Stamm 14 Kaun.-Traw.	—	—									

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Tabelle X.

Schweinestamm 3 (Trawiński)-Kaninchenserum (Titer 1:6000).

Gruppe	Stamm	1:100	1:200	1:400	1:600	1:800	1:1000	1:2000	1:4000	1:6000
I	Stamm 1	±	±	±	±					
	„ 38	±	±	±	±					
II	Stamm 13	±	Sp.							
	„ 23	±	Sp.							
III	Stamm 7	±	±							
	„ 14	±	Sp.							
	„ 22	Sp.								
	„ 26	Sp.								
	„ 34	Sp.								
	„ 50	±								
	„ 54	±								
	„ 57	±	Sp.							
	„ 58	±	±							
IV	Stamm 5	±								
	„ 9	Sp.								
	„ 15	±	Sp.							
	„ 19	±	±	Sp.						
	„ 33	±								
	„ 46	±	Sp.							
	„ 51	±	Sp.							
	„ 55	Sp.								
V	Stamm 24	±	±							
	„ 25	±	±	Sp.						
	„ 39	±	Sp.							
	„ 40	Sp.								
	„ 45	±								
VI	Stamm 4	—	—							
VII	Stamm 16	±	±	Sp.						
VIII	Stamm 20	±	±							
IX	Stamm 28	±	Sp.							
X	Stamm 29	±	±	Sp.						
XI	Stamm 30	—	—							
XII	Stamm 32	Sp.								
XIII	Stamm 35	±								
XIV	Stamm 41	±	±							
XV	Stamm 42	±	±							
XVII	Stamm 52	Sp.								
XVIII	Stamm 56	Sp.								
.	Schweinestamm 3 Traw.	+	+	+	+	+	+	+	±	±
.	B. paratyphi B	+	+	+	+	+	+	±	Sp.	
.	B. suipestifer	+	+	+	+	+	+	±	Sp.	
.	B. enteritis Gärtner	±	±	±						
.	B. paratyphi A	Sp.								
.	B. dysenteriae Flexn.	+	±	±	±	±	Sp.			
.	B. dysenter. Shig.-Kr.	±	±							

mitagglutiniert, während die Mehrzahl der Stämme gar nicht beeinflußt wird.

Mit dem agglutinierenden Serum, welches mit dem B. coli comm. „Schnürer“ hergestellt wurde, konnte bei einzelnen Stämmen eine unbedeutende Mitagglutination festgestellt werden, die meisten Stämme blieben aber vollständig unbeeinflußt (Tab. XII). Eine Ausnahme bildeten die Stämme 13 und 51, die bis $^1/_6$ des Titers agglutiniert wurden. Wir sind geneigt, diese hohe Agglutination als Paragglutination (Kuhn, 53) aufzufassen und stützen unsere Annahme auf folgende Gründe:

Tabelle XI. **Pferdestamm 12 (Russ und Trawiński)-Kaninchenserum (Titer 1:12000).**

Gruppe	Stamm	1:100	2:200	1:400	1:800	1:1000	1:2000	1:4000	1:6000	1:8000	1:10000	1:12000
I	Stamm 1	—	—									
	„ 38	—	—									
II	Stamm 3	—	—									
	„ 6	—	—									
	„ 13	—	—									
	„ 23	—	—									
	„ 43	—	—									
	„ 44	—	—									
III	Stamm 7	—	—									
	„ 14	±	Sp.									
	„ 22	—	—									
	„ 26	—	—									
	„ 34	Sp.	—									
	„ 50	—	—									
	„ 54	—	—									
	„ 57	—	—									
	„ 58	±	—									
	„ 63	—	—									
IV	Stamm 5	—	—									
	„ 9	—	—									
	„ 15	—	—									
	„ 19	—	—									
	„ 33	—	—									
	„ 46	Sp.										
	„ 51	—	—									
	„ 55	—	—									
	„ 62	—	—									
V	Stamm 24	—	—									
	„ 25	—	—									
	„ 39	—	—									
	„ 40	—	—									
	„ 45	—	—									
VI	Stamm 4	—	—									
VII	Stamm 16	—	—									
VIII	Stamm 20	—	—									
IX	Stamm 28	—	—									
X	Stamm 29	—	—									
XI	Stamm 30	—	—									
XII	Stamm 32	—	—									
XIII	Stamm 35	—	—									
XIV	Stamm 41	—	—									
XV	Stamm 42	—	—									
XVI	Stamm 49	±	Sp.									
	„ 60	±	Sp.	Sp.								
XVII	Stamm 52	±										
XVIII	Stamm 56	Sp.										
XIX	Stamm 59	—	—									
XX	Stamm 61	—	—									
.	B. paratyphi B	Sp.										
.	B. paracoli Widal	—	—									
.	B. parac. St. Kuhn-Jaiser	±	Sp.									
.	B. coli mutabile	—	—									
.	B. coli comm. Pollak	—	—									
.	B. coli comm. Schnürer	—	—									
.	B. coli comm. 3	—	—									
.	B. dysenteriae Flexner	±	±	±								
.	B. dysent. Shiga-Kruse	—	—									
.	Stamm 14 Kaun.-Traw	—	—									
.	Pferdest. 12 Russ u. Traw.	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±	±

Tabelle XII. B. coli commune (Schnürer)-Kaninchenserum (Titer 1:6000).

Gruppe	Stamm	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1000	1:2000	1:4000	1:6000
I	Stamm 1	Sp.							
	„ 58	Sp.							
II	Stamm 3	—	—						
	„ 6	—	—						
	„ 13	+	+	+	±	±			
	„ 23	—	—						
	„ 43	—	—						
	„ 44	—	—						
III	Stamm 7	Sp.							
	„ 14	±							
	„ 22	Sp.							
	„ 26	—	—						
	„ 34	—	—						
	„ 50	—	—						
	„ 54	—	—						
	„ 57	—	—						
	„ 58	—	—						
	„ 63	Sp.							
IV	Stamm 5	—	—						
	„ 9	—	—						
	„ 15	—	—						
	„ 19	—	—						
	„ 33	—	—						
	„ 46	+	±						
	„ 51	+	+	+	±	Sp.			
	„ 55	±							
	„ 62	—	—						
V	Stamm 24	—	—						
	„ 25	—	—						
	„ 39	—	—						
	„ 40	—	—						
	„ 45	—	—						
VI	Stamm 4	Sp.							
VII	Stamm 16	—	—						
VIII	Stamm 20	—	—						
IX	Stamm 28	Sp.							
X	Stamm 29	—	—						
XI	Stamm 30	—	—						
XII	Stamm 32	—	—						
XIII	Stamm 35	—	—						
XIV	Stamm 41	—	—						
XV	Stamm 42	—	—						
XVI	Stamm 49	—	—						
	„ 60	—	—						
XVII	Stamm 52	—	—						
XVIII	Stamm 56	Sp.	Sp.						
XIX	Stamm 59	±							
XX	Stamm 61	—	—						
.	B. paratyphi B	—	—						
.	B. paracoli Widal	—	—						
.	B. paracoli Kuhn-Jaiser	—	—						
.	B. coli mutabile	—	—						
.	B. coli comm. Pollak	±	Sp.						
.	B. coli comm. Schnürer	+	+	+	+	+	±	±	±
.	B. coli comm. 3	—	—						
.	B. dysenteriae Flexner	+	±	±					
.	B. dysent. Shiga-Kruse	—	—						
.	Stamm 14 Kaun.-Traw.	—	—						

1) Die starke kulturelle Differenz des Bact. coli comm. von unseren Laktose nicht vergärenden Paracoli-Stämmen. 2) In den Versuchen über Komplementbindung, wie wir weiter unten sehen werden, konnte das mit dem Stamm 19 hergestellte Serum den Stamm 51 stark beeinflussen, während das B. coli comm. unbeeinflußt blieb. 3) Bei einer Gruppenagglutination erreicht man im allgemeinen höhere Werte als $^1/_{10}$ des Titers.

Das normale Menschenserum[1]) ist auf die meisten Paracoli-Bazillen ohne Wirkung (Tab. XIII); nur bei einzelnen Stämmen, so bei den Stämmen 22, 30, 51 in der Verdünnung 1 : 50, beobachtet man eine unbedeutende Agglutination, die bei leichter Agglutinabilität dieser Stämme durch den Gehalt des Serums an Normalagglutininen leicht erklärt werden kann. Etwas höher werden die Vertreter der Gruppe I und Stamm 46 der Gruppe IV, die ersteren in der Verdünnung 1 : 300 bzw. der letztere 1 : 200, agglutiniert. Komplette Agglutination fehlt aber bei diesen Stämmen selbst in den kleinsten Verdünnungen; bei den Stämmen der Gruppe I kann sogar eine Hemmung der Agglutination in den ersten Verdünnungen beobachtet werden, die — wie man im allgemeinen annimmt (11) — durch der Agglutination entgegenwirkende Serumstoffe bedingt wird. Ob die Stämme 1, 38, 46 durch spezifische Agglutinine des normalen Menschenserums ausgeflockt wurden, halten wir für sehr fraglich, eher sind wir geneigt, ihre etwas hohe Agglutination ebenfalls durch Normalagglutinine des Menschenserums bei sehr leichter Agglutinabilität der betreffenden Stämme zu erklären.

Hiermit gelangen wir zu den Agglutinationen mit Seris, die mit unseren Paracoli-Stämmen hergestellt wurden.

Bei Verwendung des mit dem Stamm 38 hergestellten Serums konnte eine einwandfreie Differenzierung der Gruppe I erzielt werden, indem nur die beiden Vertreter dieser Gruppe, und zwar beide bis zur Titergrenze, durch das Serum ausgeflockt wurden (Tab. XIV), während die übrigen Stämme unbeeinflußt blieben. Gruppe I blieb also nicht nur kulturell, sondern auch serologisch eine Einheit, die von den anderen Gruppen leicht zu trennen ist.

Tab. XV enthält die Ergebnisse der Agglutinationen, die mit dem agglutinierenden Stamm 3-Serum ausgeführt wurden. Leider gelang es uns nicht, bei diesem Stamm einen höheren Titer als 1 : 400 zu erreichen, obgleich das Versuchstier 5mal, und auch mit unabgeschwächten, lebenden Bazillen immunisiert wurde. Nach den eindeutigen Resultaten der Agglutinationen zerfällt Gruppe II in 2 Untergruppen: die Stämme 6, 43 und 44, ebenso wie der homologe Stamm 3, werden bis zur Titergrenze oder bis in die Nähe derselben ausgeflockt, während die Stämme 13 und 23 unbeeinflußt bleiben. Auch auf die übrigen untersuchten Gruppen und auf die Kontrollstämme bleibt das mit dem Stamm 3 hergestellte Serum ohne Wirkung. Unsere oben ausgesprochene Vermutung, daß die durch die kulturelle Gleichheit ihrer Vertreter aufgestellten Gruppen keine serologische Einheiten bilden, wird mit dieser Versuchsreihe bestätigt.

Tab. XVI führt uns noch weiter; auch kulturell verschiedene Stämme können gleiches serologisches Verhalten zeigen. Das mit dem Stamm 7 hergestellte Serum, welches leider auch nur den geringen Titer von 1 : 400 aufweist, agglutiniert nicht nur Stämme der homologen Gruppe III,

---

[1]) Gewonnen von einem gegen Typhus und Cholera ungeimpften Menschen.

Tabelle XIII. Normales Menschenserum.

Gruppe	Stamm	1 : 25	1 : 50	1 : 100	1 : 150	1 : 200	1 : 250	1 : 300	1 : 400	1 : 500	1 : 600	1 : 800	1 : 1000
I	Stamm 1	Sp.	±	±	±	±	±	Sp.					
	„ 38	Sp.	Sp.	±	±	±	Sp.						
II	Stamm 3	—	—										
	„ 6	—	—										
	„ 13	—	—										
	„ 23	—	—										
	„ 43	—	—										
	„ 44	—	—										
III	Stamm 7	—	—										
	„ 14	—	—										
	„ 22	±	Sp.										
	„ 26	—	—										
	„ 34	—	—										
	„ 50	—	—										
	„ 54	—	—										
	„ 57		—										
	„ 58	—	—										
	„ 63	—	—										
IV	Stamm 5	—	—										
	„ 9	—	—										
	„ 15	—	—										
	„ 19	—	—										
	„ 33	—	—										
	„ 46	±	±	±	Sp.	Sp.							
	„ 51	±	±										
	„ 55	—	—										
	„ 62	—	—										
V	Stamm 24	—	—										
	„ 25	—	—										
	„ 39	—	—										
	„ 40	—	—										
	„ 45	—	—										
VI	Stamm 4	—	—										
VII	Stamm 16	—	—										
VIII	Stamm 20	—	—										
IX	Stamm 28	—	—										
X	Stamm 29	—	—										
XI	Stamm 30	±	Sp.										
XII	Stamm 32	—	—										
XIII	Stamm 35	—	—										
XIV	Stamm 41	—	—										
XV	Stamm 42	—	—										
XVI	Stamm 49	—	—										
	„ 60	—	—										
XVII	Stamm 52	—	—										
XVIII	Stamm 56	—	—										
XIX	Stamm 59	—	—										
XX	Stamm 61	—	—										
.	B. typhi abdominalis	—	—										
.	B. paratyphi B	±	Sp.										
.	B, paracoli Widal	±	±	Sp.									
.	B. parcoli Kuhn-Jaiser	±	Sp.										
.	B. coli mutabile	—	—										
.	B. coli comm. Pollak	—	—										
.	B. coli comm. Schnürer	—	—										
.	B. coli comm. 3	—	—										
.	Stamm 14 Kaunitz und Trawiński	±	Sp.										

Tabelle XIV. Stamm 38-Kaninchenserum (Titer 1 : 8000).

Gruppe	Stamm	1 : 100	1 : 200	1 : 400	1 : 800	1 : 1000	1 : 2000	1 : 4000	1 : 6000	1 : 8000
I	Stamm 1	+	+	+	+	+	+	±	±	Sp.
	„ 38	+	+	+	+	+	+	±	±	±
II	Stamm 3	—	—							
	„ 6	—	—							
	„ 13	—	—							
	„ 23	—	—							
	„ 43	—	—							
	„ 44	—	—							
III	Stamm 7	—	—							
	„ 14	—	—							
	„ 22	—	—							
	„ 26	—	—							
	„ 34	—	—							
	„ 50	—	—							
	„ 54	—	—							
	„ 57	—	—							
	„ 58	—	—							
	„ 63	—	—							
IV	Stamm 5	—	—							
	„ 9	—	—							
	„ 15	—	—							
	„ 19	—	—							
	„ 33	—	—							
	„ 46	—	—							
	„ 51	±								
	„ 55	—	—							
	„ 62	—	—							
V	Stamm 24	—	—							
	„ 25	—	—							
	„ 39	—	—							
	„ 40	—	—							
	„ 45	—	—							
VI	Stamm 4	—	—							
VII	Stamm 16	—	—							
VIII	Stamm 20	—	—							
IX	Stamm 28	—	—							
X	Stamm 29	—	—							
XI	Stamm 30	—	—							
XII	Stamm 32	—	—							
XIII	Stamm 35	—	—							
XIV	Stamm 41	—	—							
XV	Stamm 42	—	—							
XVI	Stamm 49	—	—							
	„ 60	—	—							
XVII	Stamm 52	—	—							
XVIII	Stamm 56	—	—							
XIX	Stamm 59	—	—							
XX	Stamm 61	—	—							
.	B. paratyphi B.	—	—							
.	B. paracoli Widal	—	—							
.	B. paracoli St. Kuhn-Jaiser	±	Sp.							
.	B. coli mutabile	—	—							
.	B. coli comm. Pollak	—	—							
.	B. coli comm. Schnürer	—	—							
.	B. coli comm. 3	—	—							
.	B. dysenter. Shiga-Kruse	—	—							
.	B. dysenteriae Flexner	Sp.	Sp.							
.	Stamm 14 Kaun. u. Traw.	±	Sp.							

Tabelle XV.

Stamm 3-Kaninchenserum (Titer 1 : 400).

Gruppe	Stamm	1 : 50	1 : 75	1 : 100	1 : 150	1 : 200	1 : 300	1 : 400
I	Stamm 1	—	—					
	„ 38	—	—					
II	Stamm 3	+	+	+	+	+	±	±
	„ 6	+	+	+	+	±	±	
	„ 13	—	—					
	„ 23	—	—					
	„ 43	+	+	+	+	+	±	
	„ 44	+	+	+	+	+	±	Sp.
III	Stamm 7	—	—					
	„ 14	—	—					
	„ 22	—	—					
	„ 26	—	—					
	„ 34	—	—					
	„ 50	—	—					
	„ 54	—	—					
	„ 57	±	Sp.					
	„ 58	—	—					
	„ 63	—	—					
IV	Stamm 5	—	—					
	„ 9	—	—					
	„ 15	—	—					
	„ 19	—	—					
	„ 33	—	—					
	„ 46	Sp.						
	„ 51	±						
	„ 55	—	—					
	„ 62	—	—					
V	Stamm 24	—	—					
	„ 25	—	—					
	„ 39	—	—					
	„ 40	—	—					
	„ 45	—	—					
VI	Stamm 4	—	—					
VII	Stamm 16	—	—					
VIII	Stamm 20	—	—					
IX	Stamm 28	—	—					
X	Stamm 29	—	—					
XI	Stamm 30	—	—					
XII	Stamm 32	—	—					
XIII	Stamm 35	—	—					
XIV	Stamm 41	—	—					
XV	Stamm 42	—	—					
XVI	Stamm 49	—	—					
	„ 60	—	—					
XVII	Stamm 52	—	—					
XVIII	Stamm 56	—	—					
XIX	Stamm 59	—	—					
XX	Stamm 61	—	—					
.	B. paratyphi B	—	—					
.	B. parac. St. Kuhn-Jaiser	—	—					
.	B. coli mutabile	—	—					
.	B. coli comm. Pollak	—	—					
.	B. coli comm. Schnürer	—	—					
.	B. coli comm. 3	—	—					
.	Stamm 14 Kaunitz und Trawiński	—	—					

Tabelle XVI.
Stamm 7-Kaninchenserum (Titer 1:400).

Gruppe	Stamm		1:50	1:57	1:100	1:150	1:200	1:300	1:400
I	Stamm	1	—	—					
	„	38	—	—					
II	Stamm	3	—	—					
	„	6	—	—					
	„	13	—	—					
	„	23	+	+	+	+	+	±	±
	„	43	—	—					
	„	44	—	—					
III	Stamm	7	+	+	+	+	±	±	±
	„	14	+	+	+	+	±	±	±
	„	22	—	—					
	„	26	—	—					
	„	34	+	+	+	+	+	±	±
	„	50	—	—					
	„	54	+	+	+	+	+	±	±
	„	57	Sp.						
	„	58	—	—					
	„	63	+	+	+	+	+	±	Sp.
IV	Stamm	5	—	—	—				
	„	9	—	—					
	„	15	+	+	+	+	±	Sp.	
	„	19	—	—					
	„	33	—	—					
	„	46	±	Sp.					
	„	51	±	Sp.	Sp.				
	„	55	—	—					
	„	62	—	—					
V	Stamm	24	—	—					
	„	25	—	—					
	„	39	—	—					
	„	40	—	—					
	„	45	—	—					
VI	Stamm	4	—	—					
VII	Stamm	16	—	—					
VIII	Stamm	20	—	—					
IX	Stamm	28	—	—					
X	Stamm	29	—	—					
XI	Stamm	30	—	—					
XII	Stamm	32	—	—					
XIII	Stamm	35	—	—					
XIV	Stamm	41	—	—					
XV	Stamm	42	—	—					
XVI	Stamm	49	—	—					
	„	60	Sp.						
XVII	Stamm	52	—	—					
XVIII	Stamm	56	—	—					
XIX	Stamm	59	—	—					
XX	Stamm	61	—	—					
.	B. paratyphi B		—	—					
.	B. parac. St. Kuhn-Jaiser		Sp.						
.	B. coli mutabile		—	—					
.	B. coli comm. Pollak		—	—					
.	B. coli comm. Schnürer		—	—					
.	B. coli comm. 3		—	—					
.	Stamm 14 Kaunitz und Trawiński		—	—					

sondern auch den Stamm 23 der Gruppe II und den Stamm 15 der Gruppe IV, beide ebenfalls bis zur Titergrenze. Von der Gruppe III werden, außer dem homologen Stamm 7, nur die Stämme 14, 34, 54 und 63 bis zur Titergrenze ausgeflockt, während die übrigen Vertreter unbeeinflußt bleiben. Die Agglutination der Stämme 46 und 51 bis $^1/_5$ bzw. $^1/_4$ des Titers kann, wenn auch etwas zu hoch, doch in Anbetracht des niedrigen Titers des untersuchten Immunserums als Mitagglutination betrachtet werden. Sämtliche übrigen Gruppen blieben vom mit dem Stamm 7 hergestellten Serum unbeeinflußt.

Bei Verwendung des mit dem beweglichen Kontrollstamm 22 hergestellten Serums läßt sich, mit Ausnahme des homologen Stammes, im allgemeinen keine Beeinflussung der untersuchten Stämme nachweisen; allein der Stamm 30 zeigt noch eine Mitagglutination in der Höhe $^1/_{10}$ des Titers (Tab. XVII).

Aus der großen Gruppe III ist auch Stamm 50 zur Immunisierung von Kaninchen, d. h. zur Herstellung von agglutinierendem Serum, angewendet worden, da derselbe weder vom Serum „7", noch vom Serum „22" beeinflußt wurde. Das gewonnene agglutinierende Serum wies den leidlichen Titer 1:600 auf, agglutinierte außer dem homologen Stamme die Stämme 58, 66 sämtliche Vertreter der Gruppe V und den B. paracoli „St. Kuhn-Jaiser", sämtliche meist bis zur Titergrenze (Tab. XVIII). Stamm 66 ist mit St. 50 nicht nur wegen des gleichen kulturellen Verhaltens beider Stämme, sondern auch deshalb identisch zu halten, weil es von demselben Kranken bei Sektion aus einem Nierenabszeß gewonnen wurde, bei dem wir den Stamm 50 im Leben aus dem Harn herausgezüchtet haben[1]). Daß die hohe Agglutination des B. paracoli „St. Kuhn-Jaiser" nur als Paragglutination aufzufassen ist, beweist die Kreuzagglutination mit dem B. paracoli-„St. Kukn-Jaiser"-Serum (Tab. IX), bei welchem St. 50 unbeeinflußt blieb. Daß dagegen die Agglutination der Stämme 50, (66), 58 und der Vertreter der Gruppe V als Gruppenagglutination aufzufassen ist, beweisen uns die Tab. XIX und XX.

Das mit St. 58 hergestellte Serum und das Serum des Pat., bei welchem St. 39 aus dem Urin herausgezüchtet wurde, agglutinieren nämlich nicht nur die homologen Stämme, sondern alle Stämme, die auch durch das Serum „50" agglutiniert wurden, und zwar meist bis zur Titergrenze, oder mindestens bis $^1/_6$ des Titers. Die übrigen Stämme bleiben unbeeinflußt, oder zeigen nur eine unbedeutende Mitagglutination.

Tab. XXI und XXII enthalten die Ergebnisse der Agglutinationen durch Sera, die mit St. 30 bzw. St. 32 hergestellt wurden. Ihre Wirkung ist eine streng spezifische, indem nur die homologen Stämme ausgeflockt werden, sämtliche übrigen vollständig unbeeinflußt bleiben.

Die Ergebnisse der Agglutinationen lassen sich in folgender kurzen Zusammenfassung wiedergeben:

1) Die untersuchten **Paracoli**-Stämme weisen weder mit der Gruppe der Paratyphusbazillen, noch mit den Dysenteriebazillen verwandtschaftliche Beziehungen auf. Auch mit dem **B. paracoli** „St. **Kuhn-Jaiser**" oder mit dem Vertreter der engeren **Coli**-Gruppe (**B. coli comm. „Schnürer"**) konnte keine Verwandtschaft hergestellt werden.

2) Das normale Menschenserum ist ohne besondere

---

1) Vgl. **Fall 1** in unserer Arbeit l. c. (33).

Tabelle XVII. Stammm 22-Kaninchenserum (Titer 1:10 000).

Gruppe	Stamm	1 : 100	1 : 200	1 : 400	1 : 800	1 : 1000	1 : 2000	1 : 4000	1 : 6000	1 : 8000	1 : 10 000
I	Stamm 1	—	—								
	„ 38	—	—								
II	Stamm 3	Sp.									
	„ 6	—	—								
	„ 13	—	—								
	„ 23	—	—								
	„ 43	—	—								
	„ 44	—	—								
III	Stamm 7	—	—								
	„ 14	—	—								
	„ 22	+	+	+	+	+	+	+	±	±	±
	„ 26	—	—								
	„ 34	—	—								
	„ 50	—	—								
	„ 54	—	—								
	„ 57	—	—								
	„ 58	—	—								
	„ 63	—	—								
IV	Stamm 5	—	—								
	„ 9	—	—								
	„ 15	—	—								
	„ 19	—	—								
	„ 33	—	—								
	„ 46	—	—								
	„ 51	—	—								
	„ 55	—	—								
	„ 62	—	—								
V	Stamm 24	—	—								
	„ 25	—	—								
	„ 39	—	—								
	„ 40	—	—								
	„ 45	—	—								
VI	Stamm 4	—	—								
VII	Stamm 16	—	—								
VIII	Stamm 20	—	—								
IX	Stamm 28	—	—								
X	Stamm 29	—	—								
XI	Stamm 30	+	+	+	±	±					
XII	Stamm 32	—	—								
XIII	Stamm 35	—	—								
XIV	Stamm 41	—	—								
XV	Stamm 42	—	—								
XVI	Stamm 49	—	—								
	„ 60	—	—								
XVII	Stamm 52	—	—								
XVIII	Stamm 56	—	—								
XIX	Stamm 59	—	—								
XX	Stamm 61	—	—								
.	B. paratyphi B	—	—								
.	B. paracoli Widal	—	—								
.	B. paracoli St. Kuhn-Jais.	±	Sp.	Sp.							
.	B. coli mutabile	—	—								
.	B. coli comm. Pollak	Sp.									
.	B. coli comm. Schnürer	—	—								
.	B. coli comm. 3	—	—								
.	B. dysenteriae Flexner	±	Sp.								
.	B. dysenteriae Shiga-Kr.	—	—								
.	Stamm I4 Kaunitz-Traw.	Sp.									

Tabelle XVIII.
Stamm 50-Kaninchenserum (Titer 1:600).

Gruppe	Stamm	1:50	1:75	1:100	1:150	1:200	1:300	1:400	1:600
I	Stamm 1	—	—						
	„ 38	—	—						
II	Stamm 3	—	—						
	„ 6	—	—						
	„ 13	—	—						
	„ 23	—	—						
	„ 43	—	—						
	„ 44	—	—						
III	Stamm 7	—	—						
	„ 14	—	—						
	„ 22	—	—						
	„ 26	—	—						
	„ 34	—	—						
	„ 50	+	+	+	+	±	±	±	±
	„ 54	Sp.							
	„ 57	—	—						
	„ 58	+	+	+	±	±	±	±	Sp.
	„ 63	—	—						
	„ 66	+	+	+	+	±	±	Sp.	Sp.
IV	Stamm 5	—	—						
	„ 9	—	—						
	„ 15	—	—						
	„ 19	—	—						
	„ 33	—	—						
	„ 46	—	—						
	„ 51	—	—						
	„ 55	Sp.							
	„ 62	—	—						
V	Stamm 24	±	±	±	±	±	Sp.		
	„ 25	±	±	±	±	Sp.			
	„ 89	±	±	±	±	Sp.	Sp.		
	„ 40	±	±	±	±	Sp.	Sp.		
	„ 45	±	±	±	±	±	Sp.	Sp.	
VI	Stamm 4	—	—						
VII	Stamm 16	—	—						
VIII	Stamm 20	—	—						
IX	Stamm 28	—	—						
X	Stamm 29	—	—						
XI	Stamm 30	Sp.	Sp.						
XII	Stamm 32	—	—						
XIII	Stamm 35	—	—						
XIV	Stamm 41	—	—						
XV	Stamm 42	—	—						
XVI	Stamm 49	—	—						
	„ 60	—	—						
XVII	Stamm 52	—	—						
XVIII	Stamm 56	—	—						
XIX	Stamm 59	—	—						
XX	Stamm 61	—	—						
.	B. paratyphi B	—	—						
.	B. paracoli St. Kuhn-Jais.	+	±	±	±	±	Sp.	Sp.	
.	B. coli mutabile	—	—						
.	B. coli comm. Pollak	—	—						
.	B. coli comm. Schnürer	—	—						
.	B. coli comm. 3	—	—						
.	Stamm 14 Kaunitz-Traw.	—	—						

Tabelle XIX.

Stamm 58-Kaninchenserum (Titer 1:6000).

Gruppe	Stamm	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1000	1:2000	1:4000	1:6000
I	Stamm 1	—	—						
	„ 38	—	—						
II	Stamm 3	—	—						
	„ 6	—	—						
	„ 13	—	—						
	„ 23	—	—						
	„ 43	—	—						
	„ 44	—	—						
III	Stamm 7	±							
	„ 14	Sp.							
	„ 22	—	—						
	„ 26	—	—						
	„ 34	Sp.							
	„ 50	+	+	+	±	±			
	„ 54	±							
	„ 57	—	—						
	„ 58	+	+	+	+	+	±	±	±
	„ 63	—	—						
IV	Stamm 5	—	—						
	„ 9	—	—						
	„ 15	—	—						
	„ 19	—	—						
	„ 33	—	—						
	„ 46	—	—						
	„ 51	—	—						
	„ 55	±							
	„ 62	—	—						
V	Stamm 24	±	±	±	±	Sp.	Sp.		
	„ 25	±	±	±	±	±	Sp.		
	„ 39	±	±	Sp.	Sp.	Sp.			
	„ 40	±	±	Sp.	Sp.	Sp.			
	„ 45	±	±	±	Sp.	Sp.			
VI	Stamm 4	—	—						
VII	Stamm 16	—	—						
VIII	Stamm 20	—	—						
IX	Stamm 28	—	—						
X	Stamm 29	—	—						
XI	Stamm 30	—	—						
XII	Stamm 32	—	—						
XIII	Stamm 35	—	—						
XIV	Stamm 41	—	—						
XV	Stamm 42	—	—						
XVI	Stamm 49	—	—						
	„ 60	—	—						
XVII	Stamm 52	—	—						
XVIII	Stamm 56	—	—						
XIX	Stamm 59	—	—						
XX	Stamm 61	—	—						
.	B. paratyphi B	—	—						
.	B. paracoli Kuhn-Jaiser	±	Sp.						
.	B. coli mutabile	—	—						
.	B. coli comm. Pollak	—	—						
.	B. coli comm. Schnürer	—	—						
.	B. coli comm. 3	—	—						
.	Stamm 14 Kaun.-Traw.	—	—						

Tabelle XX.

Stamm 39-Patientenserum (Titer 1:8000).

Gruppe	Stamm	1:100	1:200	1:400	1:600	1:800	1:1000	1:2000	1:4000	1:6000	1:8000
I	Stamm 1	+	+	±	±						
	„ 38	+	±								
II	Stamm 13	—	—								
	„ 23	±									
III	Stamm 7	—	—								
	„ 14	—	—								
	„ 22	Sp.									
	„ 26	—	—								
	„ 34	—	—								
	„ 50	+	+	±	±	±	Sp.	Sp.	Sp.		
	„ 54	—	—								
	„ 57	—	—								
	„ 59	±	±	±	±	±	±	Sp.			
IV	Stamm 5	—	—								
	„ 9	—	—								
	„ 15	—	—								
	„ 19	Sp.									
	„ 33	—	—								
	„ 46	Sp.	Sp.								
	„ 51	—	—								
	„ 55	—	—								
V	Stamm 24	±	±	±	±	±	±	±	±	Sp.	Sp.
	„ 25	±	±	±	±	±	±	±	±	Sp.	Sp.
	„ 39	±	±	±	±	±	±	±	±	Sp.	Sp.
	„ 40	±	±	±	±	±	±	Sp.	Sp.		
VI	Stamm 4	—	—								
VII	Stamm 16	±	±	Sp.							
VIII	Stamm 20	Sp.									
IX	Stamm 28	±	Sp.								
X	Stamm 29	—	—								
XI	Stamm 30	—	—								
XII	Stamm 32	—	—								
XIII	Stamm 35	±									
XIV	Stamm 41	—	—								
XV	Stamm 42	Sp.									
XVII	Stamm 52	—	—								
XVIII	Stamm 56	—	—								
.	B. typhi abdominalis	—	—								
.	B. paratyphi B	—	—								
.	B. paratyphi A	±	±	±	Sp.	Sp.					
.	B. enteritis Gärtner	—	—								
.	B. dysenteriae Flexner	Sp.									
.	B. dysenteriae Shiga-Kr.	—	—								
.	Schweinestamm 3 Traw.	Sp.									

Wirkung auf unsere **Paracoli**-Stämme; bloß die Vertreter der Gruppe I zeigen etwas hohe Mitagglutinationswerte.

3) Entgegen der Behauptung vieler Autoren, konnten wir eine Trennung unserer Stämme auf Grund ihres agglutinatorischen Verhaltens durchführen. So bilden die Vertreter der Gruppe I, dann die Stämme 3, 6, 43 und 44 der Gruppe II, St. 30, der 32 etc. agglutinatorisch ganz verschiedene Einheiten.

Tabelle XXI.

Stamm 30-Kaninchenserum (Titer 1:6000).

Gruppe	Stamm	1:100	1:200	1:400	1:600	1:800	1:1000	1:2000	1:4000	1:6000
I	Stamm 1	—	—							
	„ 38	—	—							
II	Stamm 3	—	—							
	„ 6	—	—							
	„ 13	—	—							
	„ 23	—	—							
	„ 43	—	—							
	„ 44	—	—							
III	Stamm 7	—	—							
	„ 14	—	—							
	„ 22	—	—							
	„ 26	—	—							
	„ 34	—	—							
	„ 50	—	—							
	„ 54	—	—							
	„ 57	—	—							
	„ 58	—	—							
	„ 63	—	—							
IV	Stamm 5	—	—							
	„ 9	—	—							
	„ 15	—	—							
	„ 19	—	—							
	„ 33	—	—							
	„ 46	—	—							
	„ 51	—	—							
	„ 55	—	—							
	„ 62	—	—							
V	Stamm 24	—	—							
	„ 25	—	—							
	„ 39	—	—							
	„ 40	—	—							
	„ 45	—	—							
VI	Stamm 4	—	—							
VII	Stamm 16	—	—							
VIII	Stamm 20	—	—							
IX	Stamm 28	—	—							
X	Stamm 29	—	—							
XI	Stamm 30	+	+	+	+	+	+	±	±	±
XII	Stamm 32	—	—							
XIII	Stamm 35	—	—							
XIV	Stamm 41	—	—							
XV	Stamm 42	—	—							
XVI	Stamm 49	—	—							
	„ 60	—	—							
XVII	Stamm 52	—	—							
XVIII	Stamm 56	—	—							
XIX	Stamm 59	—	—							
XX	Stamm 61	—	—							
.	B. paratyphi B	—	—							
.	B. paracoli St. Kuhn-Jais.	—	—							
.	B. coli mutabile	—	—							
.	B. coli comm. Pollak	—	—							
.	B. coli comm. Schnürer	—	—							
.	B. coli comm. 3	—	—							
.	Stamm 14 Kaunitz-Traw.	—	—							

Tabelle XXII.

Stamm 32-Kaninchenserum (Titer 1:2000).

Gruppe	Stamm	1:100	1:200	1:300	1:400	1:600	1:800	1:1000	1:1500	1:2000
I	Stamm 1	—	—							
	„ 38	—	—							
II	Stamm 3	—	—							
	„ 6	—	—							
	„ 13	—	—							
	„ 23	—	—							
	„ 43	—	—							
	„ 44	—	—							
III	Stamm 7	—	—							
	„ 14	—	—							
	„ 22	—	—							
	„ 26	—	—							
	„ 34	—	—							
	„ 50	—	—							
	„ 54	—	—							
	„ 57	—	—							
	„ 58	—	—							
	„ 63	—	—							
IV	Stamm 5	—	—							
	„ 9	—	—							
	„ 15	—	—							
	„ 19	—	—							
	„ 33	—	—							
	„ 46	—	—							
	„ 51	—	—							
	„ 55	—	—							
	„ 62	—	—							
V	Stamm 24	—	—							
	„ 25	—	—							
	„ 39	—	—							
	„ 40	—	—							
	„ 45	—	—							
VI	Stamm 4	—	—							
VII	Stamm 16	—	—							
VIII	Stamm 20	—	—							
IX	Stamm 28	—	—							
X	Stamm 29	—	—							
XI	Stamm 30	Sp.								
XII	Stamm 32	+	+	+	+	+	+	+	+	±
XIII	Stamm 35	—	—							
XIV	Stamm 41	—	—							
XV	Stamm 42	—	—							
XVI	Stumm 49	—	—							
	„ 60	—	—							
XVII	Stamm 52	—	—							
XVIII	Stamm 56	—	—							
XIX	Stamm 59	—	—							
XX	Stamm 61	—	—							
·	B. paratyphi B	—	—							
·	B. paracoli Widal	—	—							
·	B. paracoli St. Kuhn-Jais.	+	Sp.							
·	B. coli mutabile	—	—							
·	B. coli comm. Pollak	—	—							
·	B. coli comm. Schnürer	—	—							
·	B. coli comm. 3	—	—							
·	Stamm 14 Kaunitz-Traw.	—	—							
·	B. dysenteriae Shiga-Kr.	—	—							
·	B. dysenteriae Flexner	—	—							

4) **Das agglutinatorische Verhalten unserer Stämme läuft mit ihrem kulturellen Verhalten nicht immer ganz parallel. So zeigen kulturell gleiche Stämme oft verschiedenes agglutinatorisches Verhalten. Ob mit Vervollkommnung der kulturellen Untersuchungsmethoden bis jetzt verborgene kulturelle Unterschiede solcher Stämme zum Vorschein gebracht werden, lassen wir dahingestellt, obgleich es sehr wahrscheinlich ist. Kulturell verschiedene Stämme können in bezug auf die Agglutination gleiches Verhalten zeigen. So bilden nach den Ergebnissen der Agglutinationen die Stämme 50 und 58 der Gruppe III mit den Vertretern der Gruppe IV eine einheitliche Gruppe.**

b) Versuche mit Komplementbindung.

Wie wir oben schon erwähnt haben, war die Gewinnung von agglutinierenden Seris bei manchen Stämmen mit sehr großen Schwierigkeiten verbunden; bei anderen schlug sie auch gänzlich fehl. Um die serologische Differenzierung trotzdem auf möglichst viel Bakterien auszudehnen, besonders auf Stämme, mit welchen agglutinierende Sera nicht hergestellt werden könnten, bedienten wir uns der Methode der Komplementfixation (Bordet-Gengou). Als Antigen kam das Antiforminextrakt der untersuchten Bakterien (Altmann-Schultz, 42), als spezifische Antikörper das Immunserum, welches mit dem betreffenden Stamm hergestellt wurde, zur Verwendung. Das hämolytische System bestand aus Rinderblutkörperchen + Kaninchenblut + Meerschweinchenkomplement. Der bekannten Methodik (54, 55) haben wir einige Bemerkungen zuzufügen:

1. Antigen. Die Antiforminextrakte haben wir im Eisschrank aufbewahrt, ohne sie mit irgendwelchem antiseptischen Mittel zu versetren. Für sämtliche Versuchsreihen kamen immer dieselben Extrakte zur Verwendung. Die „unterhemmende Dosis“ (55) ist in Versuchen für sämtliche Extrakte gesondert festgestellt worden. Dazu muß bemerkt werden, daß relativ niedrige Extraktmengen noch Hemmung hervorgerufen haben, so daß wir in unseren Versuchen im allgemeinen 0,1 ccm Antigen, als die Hälfte der unterhemmenden Dosis, angewendet haben. Die Prüfung auf Chlorfreiheit des Antiforminextraktes geschah mittels Jodstärkepapier; zur Bindung des freien Chlors bedienten wir uns einer immer frisch hergestellten 5-proz. Lösung von Natriumsulfit. Da wir mit dem Komplement sehr sparen mußten, konnten wir nicht, wie früher bei den Agglutinationen, in einer Versuchsreihe den Antikörper mit sämtlichen Antigenen zusammenbringen; wir hielten vielmehr unter den Antigenen eine Auswahl; neben sämtlichen Vertretern der homologen Gruppe haben wir meist je einen Vertreter der übrigen Gruppen in den Versuch einbezogen. Wenn auch so unsere Versuche geringe Lücken aufweisen, konnten wir die serologische Differenzierung unserer Stämme, wie weiter unten ersichtlich, recht gut erweitern.

2. Antikörper. Auch für den Antikörper ist in Vorversuchen die unterhemmende Dosis genau festgestellt worden, und erst nach der Feststellung derselben schritten wir an die Ausführung des Hauptversuches. Wir arbeiteten mit abfallenden Dosen von Antikörper bei gleichen Antigenmengen, die wir nur aus Mangel an genügendem Komplement nicht variieren konnten. Die Inaktivierung des Immunserums geschah in Wasserbad durch eine $^1/_2$-stüdige Erhitzung bei 55—56° C.

3. Komplement. Da uns Meerschweinchen nur in beschränkter Zahl zur Verfügung standen, haben wir auf die Austitrierung des Komplementes verzichten müssen; wir verwendeten das Komplement immer in der gleichen Menge: 0,1 ccm (Citron, 55) — bzw. 1 ccm der 10-fachen Verdünnung — des abzentrifugierten Meerschweinchenserums.

4. Hämolysin. Als Hämolysin kam inaktiviertes Kaninchenserum zur Verwendung. Das Kaninchen ist mit Rinderblutkörperchen intravenös, nach der Methode von Bordet, immunisiert worden. Der hämolytische Titer des gewonnenen Immun-

serums betrug 1 : 1000, so daß wir 0,002 ccm desselben zu unseren Versuchen verwendet haben. Die Inaktivierung geschah vor jeder Versuchsreihe im Wasserbad bei 55—56° C.

5. Rinderblutkörperchen. Eine 5-proz., von Serum durch öfteres Waschen möglichst befreite Rinderblutkörperchenemulsion bildete das letzte Glied unserer Reagenzienreihe.

Die Gesamtmenge der Flüssigkeit betrug bei den Versuchen in jedem Röhrchen, auch in den Kontrollen, 5 ccm; zur Auffüllung der Reagenzien auf dieses Volumen kam eine physiologische (0,85-proz.) Kochsalzlösung zur Verwendung.

Die vorgeschriebenen Kontrollen haben wir bei jeder Versuchsreihe wiederholt, um eventuell aufgetretene Veränderungen der Reagenzien wahrnehmen zu können.

Antigen + Antikörper + Komplement hielten wir 1 Std. im Brutschrznk bei 37° C. Dann erst fügten wir das Hämolysin + Rinderblutkörperchen zu und hielten dieses Gemisch noch weitere 2 Std. im Brutschrank. Während dieser Zeit sind die Röhrchen in $^1/_2$-stünd. Intervallen gut durchgeschüttelt worden.

Die Resultate unserer Versuche mit der Komplementbindung haben wir in den folgenden Tabellen zusammengestellt.

Das mit dem Stamm 38 hergestellte Immunserum enthält spezifische Antikörper, die ausschließlich gegen die Vertreter der 1. Gruppe, gegen die Stämme 1 und 38, als Antigene gerichtet sind (Tab. XXIII). Mit den übrigen Stämmen, als Antigenen, konnte keine Komplementbindung nachgewiesen werden. Diese Versuchsreihe bestätigt nur die Resultate der Agglutinationen, die wir mit demselben Immunserum ausgeführt haben (Tab. XIV). Die serologische Einheit der Gruppe I wird durch beide angewendeten serologischen Methoden eindeutig bewiesen.

Tabelle XXIII.
m 38-Kaninchenserum (inaktiv).

kterien- xtrakt tamm	Hemmung der Hämolyse bei der Serummenge in ccm					
	0,05	0,02	0,01	0,005	0,001	—
1	++++	+++	++	—	—	—
38	+++	+++	++	+	—	—
13	—	—	—	—	—	—
22	—	—	—	—	—	—
50	—	—	—	—	—	—
58	+	—	—	—	—	—
19	—	—	—	—	—	—
39	—	—	—	—	—	—
32	—	—	—	—	—	—
49	—	—	—	—	—	—
arac. Kuhn- ser	—	—	—	—	—	—
coli uta- le	+	—	—	—	—	—
coli mm. nürer	—	—	—	—	—	—

Tabelle XXIV.
Stamm 22-Kaninchenserum (inaktiv).

Gruppe	Bakterien-extrakt Stamm	Hemmung der Hämolyse bei der Serummenge in ccm					
		0,05	0,02	0,01	0,005	0,001	—
I	38	—	—	—	—	—	—
II	13	Sp.	—	—	—	—	—
II	23	—	—	—	—	—	—
III	22	++++	++++	+++	++	—	—
III	50	Sp.	—	—	—	—	—
III	58	—	—	—	—	—	—
IV	19	—	—	—	—	—	—
V	39	—	—	—	—	—	—
XI	30	—	—	—	—	—	—
XII	32	—	—	—	—	—	—
.	B. parac. St. Kuhn-Jaiser	—	—	—	—	—	—
.	B. coli mutabile	—	—	—	—	—	—
.	B. coli comm. Schnürer	—	—	—	—	—	—

Tab. XXIV enthält die Resultate der Versuchsreihe, in welcher das mit dem beweglichen Stamm 22 hergestellte Serum auf seinen Gehalt an komplementbindenden Antikörpern untersucht wurde.

Auch diese Versuchsreihe bestätigt nur die Resultate, die wir bei den Agglutinationen mit demselben Serum gewonnen haben (Tab. XVII): bloß mit dem homologen Stamm konnte eine Komplementbindung nachgewiesen werden, der spezifische Antikörper richtet sich also nur gegen den Stamm 22, als Antigen.

Tab. XXV führt uns zu Resultaten, die wir schon mittels der anderen serologischen Methode, der Agglutination, erreicht haben. Das Immunserum, welches mit dem Kontrollstamm B. coli comm. Schnürer hergestellt wurde, enthält Antigene, die nicht nur auf den homologen Stamm eine Wirkung ausüben, sondern auch auf den Stamm 13 der Gruppe II. Bei diesen Stämmen konnte eine Komplementbindung einerseits und eine hohe Agglutination (bei dem Stamm 13 als Paragglutination erklärt) andererseits parallel nachgewiesen werden. Die strenge Parallelität der Komplementbindung mit der Agglutination in unserem Falle dürfte als neuerlicher Beweis für die Gleichheit der betreffenden Antikörper dienen, was in diesem Falle auch schon deswegen von besonderem Interesse wäre, weil hier Paragglutinine (gegenüber Stamm 13) — soweit unsere diesbezügliche Auffassung richtig ist — als komplementbindende Antikörper aufzutreten scheinen.

Die bis jetzt erwähnten Versuchsreihen bestätigen vollständig die Ergebnisse der Agglutinationen, die mit denselben Seris ausgeführt wurden.

Tabelle XXV.
B. coli commune Schnürer-Kaninchenserum.

Gruppe	Bakterien-extrakt Stamm	Hemmung der Hämolyse bei der Serummenge in ccm 0,02	0,01	0,005	0,005	0,0005	—
I	38	—	—	—	—	—	—
II	13	+++	+++	+	—	—	—
III	22	—	—	—	—	—	—
III	50	—	—	—	—	—	—
III	58	—	—	—	—	—	—
IV	19	—	—	—	—	—	—
V	39	+	—	—	—	—	—
XII	32	—	—	—	—	—	—
XVI	49	—	—	—	—	—	—
	B. paracol. St. Kuhn-Jaiser	—	—	—	—	—	—
	B. coli mutabile	—	—	—	—	—	—
	B. coli commune Schnürer	++++	+++	++	—	—	—

Tabelle XXVI.
Stamm 39-Kaninchenserum (in

Gruppe	Bakterien-extrakt Stamm	Hemmung der H bei der Serummenge 0,05	0,02	0,01	0,005
I	38	—	—	—	—
II	43	—	—	—	—
III	7	—	—	—	—
III	50	—	—	—	—
III	58	—	—	—	—
IV	19	—	—	—	—
V	24	—	—	—	—
V	25	+	—	—	—
V	39	++	+	—	—
V	40	+	Sp.	—	—
V	45	+	Sp.	—	—
	B. paracol. St. Kuhn-Jaiser	—	—	—	—

In Tab. XXVI finden wir schon einige Abweichungen vom entsprechenden Agglutinationsversuche (Tab. XX). Bevor wir auf diese Abweichungen der Resultate zwischen den beiden serologischen Methoden eingehen, muß noch erwähnt werden, daß wir die Agglutinationen mit dem Serum des Pat., bei dem St. 39 aus dem Urin herausgezüchtet wurde, ausgeführt haben, während wir in der Versuchsreihe über Komplementbindung ein Kaninchenserum angewendet haben, das mit St. 39 durch mehrmalige Immunisierung hergestellt wurde und in welchem Agglutinine nicht nachgewiesen werden konnten. Während wir im Agglutinationsversuche eine serologische Verwandtschaft der homologen Gruppe V (St. 24, 25, 39, 40, 45) mit St. 50 und 58 nachweisen bzw. bestätigen konnten, kam in der Versuchsreihe über die Komplementbindung diese Verwandtschaft nicht zum Ausdruck. Die Antikörper scheinen nur gegen die Vertreter der homologen Gruppe gerichtet zu sein, wobei aber mit St. 25 nur eine geringe, und mit St. 24 schon überhaupt keine

Komplementbindung erzielt werden konnte. Wir sind geneigt, diese Differenz zwischen den beiden serologischen Methoden auf den verschiedenen Gehalt der beiden Sera an spezifischen Antikörpern zurückzuführen, wobei wir es noch dahingestellt lassen, ob die homologe Gruppe V von den kulturell verschiedenen Stämmen 50 und 58, wenn auch serologisch sehr nahe stehend (vgl. die Agglutinationen), doch auch in dieser Hinsicht zu trennen wäre, wofür eben Tab. XXVI eine gewisse Stütze zu bilden scheint.

Wenn auch der Gehalt des Kaninchenserums, welches mit St. 39 hergestellt wurde, an Antikörpern nur ein geringer ist, konnte mit ihm eine Komplementbindung, dagegen aber keine Agglutination nachgewiesen werden. Dieser Umstand spricht aber nicht für die Differenz der Antikörper, die bei der Komplementbindung einerseits und bei der Agglutination andererseits eine Rolle spielen. Daß Agglutinine nicht nachgewiesen werden konnten, kann sehr gut durch physikalische Verhältnisse erklärt werden, die eine Ausflockung der Bakterien verhindert, dagegen den Vorgang der Komplementbindung durch dieselben Antikörper gefördert haben.

Tabelle XXVII.
Stamm 19-Kaninchenserum (inaktiv).

kterien-extrakt Stamm	Hemmung der Hämolyse bei der Serummenge in ccm						Gruppe	Bakterien-extrakt Stamm	Hemmung der Hämolyse bei der Serummenge in ccm					
	0,01	0,005	0,001	0,0005	0,0001	—			0,01	0,005	0,001	0,0005	0,0001	—
38	—	—	—	—	—	—	IV	55	Sp.	—	—	—	—	—
13	—	—	—	—	—	—	IV	62	+++	++	—	—	—	—
23	—	—	—	—	—	—	V	39	—	—	—	—	—	—
7	++	—	—	—	—	—	X	29	—	—	—	—	—	—
14	—	—	—	—	—	—	XI	30	++	Sp.	—	—	—	—
22	—	—	—	—	—	—	XII	32	—	—	—	—	—	—
34	Sp.	—	—	—	—	—	XVI	49	—	—	—	—	—	—
50	—	—	—	—	—	—	XVIII	56	Sp.	—	—	—	—	—
54	Sp.	—	—	—	—	—	XIX	59	—	—	—	—	—	—
57	—	—	—	—	—	—	XX	61	—	—	—	—	—	—
58	—	—	—	—	—	—	.	B. coli mutabile	—	—	—	—	—	—
63	—	—	—	—	—	—								
5	—	—	—	—	—	—								
9	—	—	—	—	—	—	.	B. parac. St. Kuhn-Jaiser	—	—	—	—	—	—
15	—	—	—	—	—	—								
19	++++	++	—	—	—	—								
33	—	—	—	—	—	—	.	B. coli comm. Schnürer	++	Sp.	—	—	—	—
46	+++	++	—	—	—	—								
51	+++	Sp.	—	—	—	—								

In Tab. XXVII sind die Resultate über Komplementbindung mit einem Serum zusammengestellt worden, welches mit St. 19 der Gruppe IV hergestellt wurde und keine agglutinatorische Kraft aufweisen konnte. Und wie aus der Tabelle ersichtlich, konnten mittels der Komplementbindung in demselben Serum spezifische Antikörper gegen die Stämme 19 (homologer Stamm), 46, 51, 62 der Gruppe IV, gegen St. 30 und das Bact. coli comm. „Schnürer“ nachgewiesen werden. Die geringfügige Komplementbindung, die bei einigen anderen Stämmen konstatiert wurde, kann man ohne weiteres vernachlässigen. Die Ergebnisse der Agglutinationsversuche schließen eine enge serologische Verwandtschaft zwischen St. 19 einerseits und St. 30 (Tab. XXI), dem B. coli comm. „Schnürer“ (Tab. XII) andererseits aus. Die St. 19, 46, 56 und 62 der Gruppe V bilden allein eine serologische Einheit; die übrigen Stämme

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

der Gruppe V zeigen mit diesen Stämmen nur ein kulturell identisches Verhalten.

Mit dem Serum, welches mit St. 49 hergestellt wurde, konnte, wie früher die kulturelle, so jetzt die serologische Zusammengehörigkeit der St. 49 und 60 (Gruppe XVI) eindeutig bewiesen werden (Tab. XXVIII). Der starken Komplentbindung, die bei dieser Versuchsreihe mit St. 30 aufgetreten ist, braucht keine große Bedeutung beigemessen zu werden, mit Rücksicht auf die Ergebnisse der Agglutinationen mit dem agglutinierenden St. 30-Serum, welches die St. 49 und 60 unbeeinflußt ließ. Die Komplementbindung mit St. 30 als Antigen konnte als eine der Paragglutination ähnliche Erscheinung aufgefaßt werden.

Tabelle XXVIII.
Stamm 49-Kaninchenserum (inaktiv).

Gruppe	Bakterienextrakt Stamm	Hemmung der Hämolyse bei der Serummenge in ccm 0,05	0,02	0,01	0,005	0,001	—
I	38	—	—	—	—	—	—
II	13	—	—	—	—	—	—
III	22	—	—	—	—	—	—
III	50	—	—	—	—	—	—
III	58	—	—	—	—	—	—
IV	19	—	—	—	—	—	—
V	39	—	—	—	—	—	—
XI	30	++++	++	+	—	—	—
XII	32	—	—	—	—	—	—
XVI	49	+++	++	—	—	—	—
XVI	60	+++	++	—	—	—	—
.	B. paracol. St. Kuhn-Jaiser	+	—	—	—	—	—
.	B. coli mutabile	—	—	—	—	—	—
.	B. coli commune Schnürer	—	—	—	—	—	—

Tabelle XXIX.
Stamm 63-Kaninchenserum (ina

Gruppe	Bakterienextrakt Stamm	Hemmung der Hä bei der Serummenge i 0,01	0,005	0,002	0,001	0,0
I	38	—	—	—	—	—
II	23	+++	++	Sp.	—	—
II	43	—	—	—	—	—
III	7	+	—	—	—	—
III	14	Sp.	—	—	—	—
III	34	Sp.	—	—	—	—
III	50	—	—	—	—	—
III	54	++	Sp.	—	—	—
III	58	Sp.	—	—	—	—
III	63	+++	+	Sp.	—	—
IV	19	Sp.	—	—	—	—
V	39	—	—	—	—	—
.	B. paracol. St. Kuhn-Jaiser	++	Sp.	—	—	—
	B. coli mutabile	—	—	—	—	—

Tab. XXIX führt uns zu besonders wichtigen Versuchen.

Wie uns die Agglutinationen mit dem agglutinierenden Stamm 7-Serum gelehrt haben (Tab. XVI), sollte man an eine nahe Verwandtschaft, vielleicht sogar an eine Zusammengehörigkeit der Stämme 7, 14, 34, 25, 54, 63 denken. Die Versuchsreihe, die durch das mit St. 63 hergestellte Serum ausgeführt wurde, konnte diese Auffassung nicht bestätigen, indem wir nur eine Zusammengehörigkeit (enge Verwandtschaft) der Stämme 54 und 63 der homologen Gruppe V und des St. 23 der Gruppe II beweisen konnten, während die St. 7, 14, 34 als Antigene nur in sehr geringem Maße komplementbindend gewirkt haben. Die Komplementbindung mit dem B. paracoli „St. Kuhn-Jaiser“ dürfte nur als eine der Paragglutination ähnliche Erscheinung aufgefaßt werden, wie auch aus den Resultaten der „Kreuzagglutination“ (Tab. IX) hervorgeht.

Die letzte Versuchsreihe (Tab. XXX), die wir mit der serologischen Methode der Komplementbindung ausgeführt haben, konnte die serologische Einheit des B. coli mutabile eindeutig beweisen. Agglutinine konnten wir in demselben Serum nicht feststellen (40).

Das Serum, welches mit St. 13 hergestellt wurde, konnte weder mit dem homologen Stamm als Antigen, noch mit den übrigen Stämmen eine Komplementbindung aufweisen.

Wenn wir die Resultate, die wir mittels der serologischen Methode der Komplementbindung erzielt haben, kurz zusammenfassen, so kann die Tatsache festgestellt werden, daß die Differenzierung und Trennung unserer Stämme mit dieser Methode gefördert wurde.

Nach den Ergebnissen der beiden angewendeten serologischen Methoden, der Agglutination und der Komplementbindung, gestaltet sich die Differenzierung unserer Stämme in folgender Weise:

Tabelle XXX.

B. coli mutabile-Kaninchenserum (inaktiv).

Gruppe	Bakterienextrakt Stamm	Hemmung der Hämolyse bei der Serummenge in Kubikzentimeter					
		0,02	0,01	0,005	0,002	0,001	—
I	38	—	—	—	—	—	—
II	13	—	—	—	—	—	—
II	23	—	—	—	—	—	—
III	22	—	—	—	—	—	—
III	50	—	—	—	—	—	—
III	58	—	—	—	—	—	—
IV	19	—	—	—	—	—	—
V	39	—	—	—	—	—	—
XI	30	—	—	—	—	—	—
XII	32	—	—	—	—	—	—
XVI	49	—	—	—	—	—	—
.	B. paracoli St. Kuhn-Jaiser	—	—	—	—	—	—
.	B. coli mutabile	++++	+++	++	—	—	—
.	B. coli comm. Schnürer	—	—		—	—	—

1) Die Gruppe I (St. 1 und 38) bildet eine serologische Einheit.

2) Die St. 3, 6, 43 und 44 der Gruppe II bilden ebenfalls eine serologische Einheit.

3) St. 23 der Gruppe II weist mit St. 54 und 63 der Gruppe III enge, mit den St. 7, 14, 34 derselben Gruppe nur weite serologische Beziehungen auf. Die Frage der Zusammengehörigkeit der St. 23 und 15 bleibt offen, da die diesbezüglichen Versuche nicht bis zum Ende geführt wurden (vgl. Tab. XVI).

4) St. 13 bildet die 3. serologische Untergruppe der Gruppe II.

5) St. 7, 14, 34 der Gruppe III gehören eng zusammen, mit den St. 54 und 63 der homologen Gruppe, und mit den St. 15 der Gruppe IV, 23 der Gruppe II zeigen sie eine serologische Verwandtschaft.

6) St. 50 (66), 58 der Gruppe III und sämtliche Vertreter der Gruppe V zeigen enge verwandtschaftliche Beziehungen, doch dürfte vielleicht eine engere Zusammengehörigkeit der St. 50 (66), 58 einerseits und der Vertreter der Gruppe V andererseits angenommen werden.

7) St. 22 bildet eine serologische Einheit.

8) St. 19, 46, 51 und 62 gehören eng zusammen, während die übrigen Angehörigen der Gruppe IV nicht differenziert wurden.

9) St. 30 bildet eine serologische Einheit, ebenfalls

10) St. 32.

11) Die Vertreter der Gruppe XVI (St. 49, 60) gehören eng zusammen.

12) Die übrigen Paracoli-Stämme sind serologisch nicht differenziert worden.

Der Kolonietypus.

„Den auf Gelatine und Lackmus-Laktose-Agar makroskopisch hervorgetretenen Wachstumsdifferenzen möchte ich eine größere Bedeutung beimessen. Dieselben waren so prägnant und so konstant, daß man hoffen darf, es werde der weiteren Forschung gelingen, hier noch weitere und schärfere Unterscheidungsmerkmale aufzufinden“ — schreibt Burk in seiner Arbeit über die Differenzierung der Coli-Gruppe. Erst neuerdings haben Felsenreich und Trawiński ebenfalls die Wichtigkeit des Kolonietypus der Wachstumsverhältnisse für die morphologische Differenzierung der einzelnen Spezies der Typhus-Coli-Gruppe hervorgehoben und sind in ihren diesbezüglichen Untersuchungen (39) zu befriedigenden Resultaten gelangt. Es schien uns die Hoffnung gerecht, durch die Feststellung des Kolonietypus unserer Stämme weitere Mittel für die Differenzierung derselben gewinnen zu können. Unter Kolonietypus verstehen wir nach Felsenreich und Trawiński die Gesamtheit der geometrischen und optischen Merkmale, die bei den Kolonien der betreffenden Stämme mit einer etwa 10-fachen Lupenvergrößerung in schräg einfallendem und durchfallendem Lichte festgestellt werden können. In der Methodik folgten wir den Ausführungen von Felsenreich und Trawiński wie sie in ihrer erwähnten Publikation dargelegt sind. Diesbezüglich verweisen wir auf die Originalarbeit.

Typus 1.

(Stämme 1, 38 der kulturellen Gruppe I.)

1. Beobachtungstag (d. h. nach 16-stünd. Bebrütung bei 37° C und weiterem 5-stünd. Belassen bei Zimmertemperatur). Die Kolonie besitzt die Form einer kleinen, kreisrunden Platte, mit Uebergang in einen flachen Kuppenstutz. Zentral befindet sich eine kleine, aufgesetzte Kuppe mit einer lochartigen, mittelständigen Vertiefung. Die Oberfläche der Kolonie ist feucht glänzend, mäßig höckerig. Die Durchsichtigkeit ist besonders an der Peripherie gut und nimmt gegen das Zentrum mäßig ab. Die mittelgroßen, wenig irisierenden Granula stehen in der Peripherie in ziemlich lockerer, schütterer Anordnung, verdichten sich langsam gegen das Zentrum. Die ganze Granulierung zeigt viel Aehnlichkeit mit der Paratyphus B-Granulierung, wie sie von Felsenreich und Trawiński (l. c.) beschrieben wurde.

Am 2. Beobachtungstag (nach weiterem 24-stünd. Belassen bei Zimmertemperatur) zeigen die Kolonien deutlich die Form eines abgeflachten Kuppenstutzes. Die zentral aufgestellte Kuppe ist bei den meisten Kolonien schon ganz verschwunden, oder ist bloß noch angedeutet, indem sie noch von einer lichten, schmalen, zirkulären Furche von der übrigen Kolonie getrennt wird. Die zentrale Vertiefung ist auch undeutlich geworden. Die Kolonie hat an Breite, Ausdehnung stark zugenommen; die Randpartien gehen ohne besondere Knickung sanft bogenförmig in die Stutzfläche über. Die Durchsichtigkeit hat stark abgenommen, die Granulierung sich stark verdichtet, ist aber trotzdem an der Peripherie noch wahrnehmbar.

3. Beobachtungstag (nach weiterem 24-stünd. Belassen bei Zimmertemperatur): Die Kolonie nimmt mehr die Form einer abgeflachten, einfachen Kuppe mit einer nur angedeuteten zentralen, kuppenartigen Erhabenheit, die peripher — wie am Vortage —

durch eine sehr seichte, schmale Furche zirkulär begrenzt wird. Die Kolonie ist auch breiter und flacher geworden, das zentrale Loch ist noch wahrnehmbar, aber kleiner als am Vortage. Die Oberfläche ist gleichmäßig leicht höckerig. Die Durchsichtigkeit hat noch stark abgenommen; die Granulierung ist selbst an der Peripherie schon ganz verschwunden.

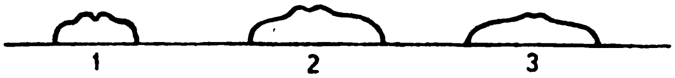


Fig. 1. Schematische Darstellnng. 1 erster, 2 zweiter, 3 dritter Beobachtungstag.

In den folgenden Tagen ist die Kolonie noch flacher geworden, zeigt gut ausgebildete, zirkuläre Furchen, die an der Peripherie dichter stehen als in den mittleren Partien. Das Zentrum ist grau-gelblich, wird aber mit einem bis an die Randpartien reichenden, breiten. blauen Band umgeben, welches durch Resorption des Lackmusfarbstoffes aus dem Nährboden bedingt sein dürfte.

Typus 2.

(Stämme 3, 6, 43, 44 der kulturellen Gruppe II.)

1. Beobachtungstag. Der Form nach ist die Kolonie einer Platte ähnlich, deren Randpartien sich mäßig konvex und ziemlich steil von der Basis erheben. Beim Uebergang der Randpartien in die obere Plattenfläche befindet sich eine scharfe Kante. Ein Randsaum ist nicht vorhanden. Die zentralen Anteile der oberen Plattenfläche sind leicht emporgehoben, besitzen kein zentrales Loch. Die Durchsichtigkeit ist bedeutend. Die wenig irisierenden, mäßig großen Granula sind an der Peripherie in einer gitterförmigen, lockeren Anordnung verteilt, die sich ohne Rhombusfiguren gegen das Zentrum allmählich verdichten.

2. Beobachtungstag. Die Kolonie besitzt jetzt die Form eines breiten, flachen Kegelstutzes, mit einer sehr breiten, kreisrunden Stutzfläche, die durch eine gut ausgebildete, mäßig scharfe Kante von den Seitenpartien abgetrennt wird. Die Seitenpartien fallen gradlinig und ziemlich steil auf den Boden herab. Zentral an der Stutzfläche befindet sich eine flache, kuppenförmige Erhebung mit einer zentralen, kraterförmigen Einziehung. Die zentrale Erhabenheit ist peripher durch eine sehr schmale, meist nur undeutlich ausgebildete, zirkuläre Front umgeben. Die Oberfläche der Randpartien ist rauh, die der Stutzfläehe und der zentralen Erhebung mehr glatt. Die Durchsichtigkeit hat, besonders im Zentrum, stark abgenommen; die Granulierung ist nur an der Peripherie sichtbar und hat sich bedeutend verdichtet.

3. Beobachtungstag. Die Kolonie hat an Breite beträchtlich zugenommen, hat aber die Kegelstutzform noch behalten. Durch hervortretendes Wachstum der Randpartien besitzt die Seitenwand einen mäßig konkaven Verlauf; von der Stutzfläche wird sie weiterhin durch eine scharfe Kante getrennt. Der ringförmig verlaufende, die Stutzfläche von der aufgesetzten Kuppe trennende Graben wird breiter und tiefer. Die Durchsichtigkeit hat noch abgenommen; die Granulierung ist an der Peripherie noch deutlich, verschwindet gegen das Zentrum vollständig.

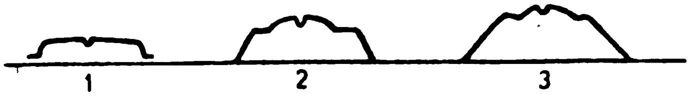


Fig. 2. Schematische Darstellung. 1 erster, 2 zweiter, 3 dritter Beobachtungstag.

In den folgenden Tagen bemerkt man im Bereiche der Randpartien 2—3 ringförmig verlaufende Abstufungen (Etagenanordnung). In den zentralen Anteilen der Kolonie ist eine blau erscheinende, dichte Verfärbung aufgetreten, die sich immer mehr gegen die Peripherie ausbreitet. Das Zentrum bleibt aber grau-gelblich. Die Verfärbung der Ansiedlung dürfte infolge der Resorption des Lackmusfarbstoffes aus dem Nährboden zustande kommen (vgl. Typus 1).

Typus 3.

(Stamm 23 der kulturellen Gruppe II und Stämme 54, 63 der kulturellen Gruppe III.)

1. Beobachtungstag. Die Kolonie besitzt die Form einer kreisrunden Platte, deren Randpartien sich ziemlich steil von der Basis erheben und unter Knickung, aber ohne besondere Kantenbildung, in die obere Plattenfläche übergehen. Die zentralen

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Anteile der Plattenfläche heben sich leicht empor, ohne eine ausgesprochene zentrale Erhebung zu bilden. Zentral befindet sich eine gut ausgebildete, breite, tiefe, lochartige Vertiefung. Der flach auslaufende, von der Kolonie sich scharf absetzende Randsaum ist sehr schmal. Die Oberfläche der Kolonie ist rauh, höckerig. Die Durchsichtigkeit gut, das Irisieren nur mäßig. Die mittelgroßen Granula bilden peripher rhombusartige Figuren und verdichten sich nur allmählich gegen das Zentrum.

Am 2. Beobachtungstag stellt die Kolonie die Form eines Kuppenstutzes dar. Die Seitenwände erheben sich steil von der Basis, um dann nach einem mäßig konkaven Verlauf ohne scharfe Kante in einem gut ausgebildeten Bogen in die Stutzfläche überzugehen. Die Stutzfläche besitzt eine gut entwickelte, zentrale Delle. Die Oberfläche der Randpartien ist glatt, nur die der Stutzfläche zeigt eine mäßig höckerige Beschaffenheit. Der Randsaum ist durch das Wachstum der Randpartien vollkommen überdeckt. Die Durchsichtigkeit hat stark abgenommen, die Granulierung ist dementsprechend viel dichter, die Kolonie viel opaker geworden. Die Rhombusanordnung der Granula ist aber an der Peripherie noch erkenntlich.

3. *Beobachtungstag.* Die Kolonie ist breiter und platter geworden. Durch hervortretendes Wachstum der Seitenpartien verliert die Kolonie die Form des Kuppenstutzes und weist vielmehr eine einfache Kuppengestalt auf. Sonst keine besonderen Veränderungen.

In den folgenden Tagen sind, außer der Ausbildung eines verdichteten Wucherungswalles, keine wesentlich veränderten Merkmale zu verzeichnen.

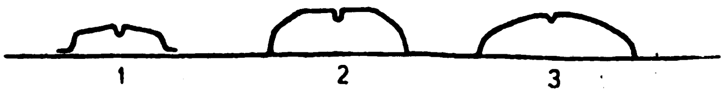


Fig. 3. *Schematische Darstellung.* 1 erster, 2 zweiter, 3 dritter Beobachtungstag.

Typus 4.

(*Stämme 7, 14, 34 der kulturellen Gruppe III und Stamm 15 der kulturellen Gruppe IV.*)

Am 1. Beobachtungstag besitzt die Kolonie die Form einer kreisrunden Platte mit ziemlich steil auf den Boden herabfallenden Seitenpartien. Ein flach auslaufender, aber schmaler Randsaum ist nur angedeutet und setzt sich von der Platte scharf ab. Die Seitenpartien gehen unter scharfer Knickung, aber ohne besondere Kantenbildung, in die obere, stark höckerige Plattenfläche über. Zentral befindet sich, allmählich aufsteigend, eine kleine, kegelförmige Erhebung mit einer lochartigen scharfrandigen Vertiefung. Mäßiges, aber deutliches Irisieren. Die Durchsichtigkeit ziemlich gering. Die Granulierung zeigt an der Peripherie eine deutliche Rhombusanordnung und verdichtet sich nur langsam gegen das Zentrum der Ansiedlung.

2. *Beobachtungstag.* Die Kolonie ist breiter geworden, zeigt die Form eines kreisrunden Kegelstutzes. Die Seitenwände erheben sich steil von der Basis und gehen nach einer kurzen, nicht konkaven Einbuchtung, unter einer sehr scharfen Kante in die Stutzfläche über. Die Stutzfläche bietet eine zentrale, kuppenförmige Erhabenheit mit einer feinen, lochartigen Vertiefung. Die zentrale Erhebung ist peripher von einem schmalen, gut ausgebildeten Graben umgeben, der seinerseits peripher von der überragenden Kante der Stutzfläche begrenzt wird. Die Stutzfläche ist mäßig höckerig, die Seitenwände sind mehr glatt. Der auslaufende Rand ist durch das Wachstum der Randpartien vollkommen überdeckt. Die Durchsichtigkeit hat sehr stark abgenommen, ebenso das Irisieren. Die Granulierung besteht nur an der äußersten Peripherie, verschwindet rasch gegen das Zentrum.

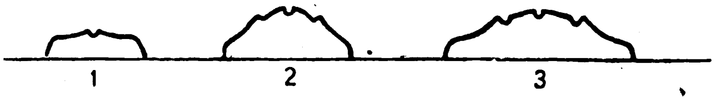


Fig. 4. *Schematische Darstellung.* 1 erster, 2 zweiter, 3 dritter Beobachtungstag.

3. *Beobachtungstag.* Durch hervortretendes Wachstum der äußerten Randpartien ist die Kolonie flacher geworden. Sie zeigt noch immer die Form eines Kegelstutzes mit stark konkaven Seitenrändern, die dann steil, konvex-bogenförmig auf den Boden herabfallen. An der Grenze der Stutzfläche und der Seitenwand ist die zirkuläre Furche tiefer und breiter geworden. Die Stutzfläche erscheint im Verhältnis zur ganzen Kolonie kleiner als am Vortage. Die zentrale Vertiefung ist noch deutlich erkenntlich. Die Oberfläche ist auch an der Stutzfläche glätter geworden. Granulierung und Irisieren sind ganz verschwunden. Zahlreiche Kolonien zeigen sehr stark aus-

gebildete, radiär verlaufende Furchen, die sich gegen das Zentrum verlieren. Entsprechend den Furchen zeigen die Kolonien am Rand oft verschieden große Einkerbungen.

In den folgenden Tagen wird die Kolonie noch flacher; in den Seitenpartien bilden sich zirkulär verlaufende, feine, seichte Furchen (Abstufungen) aus, die ziemlich dicht nebeneinander stehen und durch die von der Basis aufsteigenden, radiär verlaufenden Gräben durchkreuzt werden.

Typus 5.

(Stamm 22 der kulturellen Gruppe III.)

Der bewegliche Stamm 22, der zu unseren Versuchen als Kontrollstamm diente, nimmt in bezug auf den Kolonietypus, ebenso wie auf sein serologisches Verhalten, eine gesonderte Stellung ein.

1. Beobachtungstag. Die Kolonie stellt sich als eine kreisrunde Platte dar mit einem undeutlich ausgebildeten Randsaum, der, radiär gezähnt, sich scharf von der Platte absetzt. Die Randpartien erheben sich mäßig konkav, ziemlich steil von der Basis, um unter Kantenbildung in die obere Plattenfläche überzugehen. Dieselbe besitzt in der Mitte eine kuppenförmige Erhebung, die allmählich aufsteigt und eine zentrale, lochartige Vertiefung aufweist. Mäßiges, aber deutliches Irisieren. Die Granulierung ist an der Peripherie sehr schütter und erscheint in grober Körnelung, die sich nur allmählich gegen das Zentrum der Ansiedlung verdichtet. Eine Rhombusanordnung der Granula ist nicht wahrnehmbar.

2. Beobachtungstag. Die Kolonie ist breiter und flacher geworden. Durch hervortretendes Wachstum der Randpartien wird der Randsaum vollkommen verdeckt und verschwindet gänzlich. Die zentrale Erhebung ist abgeplattet und kleiner geworden; die zentrale Delle ist groß und breit. Peripher, in gewisser Entfernung von der zentralen Erhebung. verläuft eine zirkuläre, abgerundete Leiste, die peripher steiler als zentral abfällt. Durchsichtigkeit und Irisieren haben sehr stark abgenommen; Granulierung beinahe vollständig verschwunden.

3. Beobachtungstag. Die Kolonie hat an Breite zugenommen. Sonst keine besonderen Veränderungen.

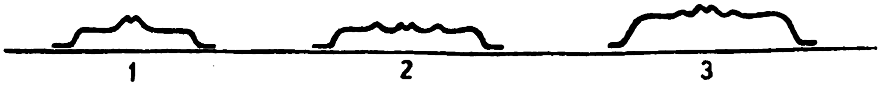


Fig. 5. Schematische Darstellung. 1 erster, 2 zweiter, 3 dritter Beobachtungstag.

In den folgenden Tagen bilden sich an den Kolonien die Tochterkolonien, die Knöpfe aus. An einer Kolonne findet man verschieden große, weiße Knöpfe. Daneben entsteht, besonders an frei, nicht gedrängt stehenden Kolonien, ein schmaler und nur sehr undeutlich radiär gestreifter, weißer, glasiger Schleimwall, der viel weniger dicht erscheint als der Schleimwall des B. paratyphi B. Der Schleimwall entwickelt sich meist exzentrisch, sichelförmig und wächst nur allmählich um die ganze Kolonie.

Typus 6.

(Stamm 26 der kulturellen Gruppe III.)

1. Beobachtungstag. Die Kolonien erscheinen in Form von kreisrunden Platten mit einer zentralen, sanft aufsteigenden Erhebung, die peripher von einer seichten Furche umgeben ist. Die zentrale, kuppenförmige Erhebung besitzt eine nur angedeutete freie Delle. Die Oberfläche ist von auffallend glatter Beschaffenheit. Ein Randsaum ist nicht vorhanden, dagegen weist der Rand sehr feine, radiäre Einkerbungen auf. Die Kolonie ist mäßig durchsichtig, opak und irisiert stark. Granulierung nur an der Peripherie sichtbar, zeigt eine mäßige, aber deutliche Rhombusanordnung. Die Granula verdichten sich rapid gegen das Zentrum; entsprechend der zirkulären Furche der oberen Plattenfläche sind sie schon ganz verschwunden.

2. Beobachtungstag. Die Kolonie hat durch hervortretendes Wachstum der Randpartien an Breite sehr stark zugenommen, besitzt noch immer die Form einer Platte mit einer zentralen, kuppenförmigen Erhabenheit, die peripher durch eine angedeutete Leiste begrenzt wird. Die zentrale Delle ist schon verschwunden oder nur noch angedeutet. Die Oberfläche ist sehr glatt, wenig glänzend. Die Granulierung hat stark abgenommen; das Irisieren ist, mit Ausnahme des äußersten Randes, ganz verschwunden.

3. Beobachtungstag. Die Kolonie ist breiter und opaker geworden. Sonst keine auffallenden Veränderungen.

In den folgenden Tagen entwickeln sich die Tochterkolonien, die Knöpfe. Sonst lassen sich keine wesentlichen Veränderungen feststellen.

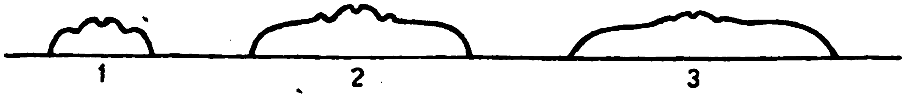


Fig. 6. Schematische Darstellung. 1 erster, 2 zweiter, 3 dritter Beobachtungstag.

Typus 7.

(Stamm 5 der kulturellen Gruppe IV.)

1. Beobachtungstag. Die Kolonie erscheint in Form einer kreisrunden, ziemlich breiten Platte, mit einer mittelständigen, mäßig kegelförmig ausgebildeten (oder nur angedeuteten) Erhebung, die eine sehr deutliche, zentrale, lochartige Vertiefung besitzt. Die Oberfläche ist mäßig gehöckert, nur die Seitenpartien, die recht steil bogenförmig sich von der Basis emporheben, sind mehr oder weniger glatt. Die zentrale Erhebung ist durch eine breite, sehr seichte, ringförmige Furche von den Seitenpartien getrennt. Große Granula sind an der Peripherie wahrnehmbar und zeigen eine gut ausgeprägte Rhombusanordnung. Die Granulierung verschwimmt gegen das Zentrum, doch bleibt die Andeutung von Rhombusanordnung bis in die Mitte erhalten. Die Kolonie irisiert sehr stark, mit einem Stich ins Violette und ist nur wenig durchsichtig. Randsaum fehlt.

Am 2. Beobachtungstag nimmt die Kolonie, indem sie höher geworden ist, die Form eines recht steil aufsteigenden Kuppenstutzes mit breiter Stutzfläche an. Die Seitenpartien gehen unter scharfer Knickung in die Stutzfläche über. Die zentrale Erhebung ist jetzt nur noch angedeutet und flacher geworden. Sie wird von einer zirkulären Leiste umgeben, die peripher in einen seichten, aber breiten Graben übergeht und zentral durch eine kleine, schmale Furche von der mittleren Erhebung getrennt erscheint. Das zentrale Loch ist kraterförmig vertieft, sehr deutlich entwickelt und besitzt, aber mehr nur angedeutet, feine, radiär verlaufende Runzeln an der Uebergangsstelle in die mittlere Erhebung. Die Durchsichtigkeit hat noch abgenommen. Die Granulierung ist nur noch an der Peripherie wahrnehmbar; die großen Granula sind verschwunden und durch kleinere, dichter stehende ersetzt. Im auffallenden Licht erscheint die Kolonie in mehr weißlicher Farbe; das weiße Zentrum, entsprechend der zentralen Erhebung, ist mit einem schmalen, grauen Bande umgeben, das peripher dann wieder weiß begrenzt wird.

3. Beobachtungstag. Durch weiteres Wachstum der Seitenpartien wird die Stutzfläche breiter; die zirkuläre Furche und Leiste, welche die zentrale Erhebung umgeben, rücken mehr gegen das Zentrum hin. Die kraterförmige, zentrale Vertiefung hat an Tiefe und Breite nicht abgenommen; bloß die zentrale Erhebung ist im Verhältnis zur Kolonie etwas kleiner geworden. Durchsichtigkeit und Irisieren haben stark abgenommen; Granulierung nur an der äußersten Peripherie wahrnehmbar.

In den folgenden Tagen ist die Kolonie durch weiteres Wachstum der Randpartien breiter und platter geworden. Die Randpartien steigen nach einem anfänglich leicht konvexen Bogen mäßig konkav zur Stutzfläche hinauf. Die Randpartien sind etwas rauh und gehöckert, die mittlere Erhebung ist dagegen glatter. Die Leiste, welche die zentrale Erhebung umgibt, ist noch deutlich wahrnehmbar; peripher von ihr hat sich eine 2. parallele Leiste ausgebildet, die durch eine schmale Furche von der ersteren getrennt ist.

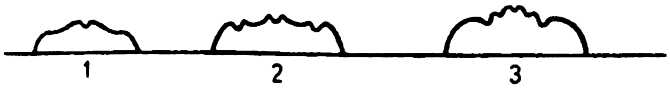


Fig. 7. Schematische Darstellung. 1 erster, 2 zweiter, 3 dritter Beobachtungstag.

Typus 8.

(Stämme 9, 19, 46, 51, 62 der kulturellen Gruppe IV.)

Am 1. Beobachtungstag lassen sich zwischen den Kolonien dieser Stämme und der Kolonie des St. 5 (Typ. 7) keine wesentlichen Unterschiede feststellen.

Erst am 2. Beobachtungstag treten Unterschiede auf, die den Typ. 8 vom Typ. 7 abtrennen lassen. Die Kolonie weist die Form eines abgeflachten Kuppenstutzes auf, mit sanft bogenförmig aufsteigenden Seitenpartien, die ohne Knickung in die Stutzfläche übergehen. Die zentrale, mehr kuppenförmig ausgebildete Erhebung ist flacher und im Verhältnis zur ganzen Kolonie kleiner geworden; sie ist mit einer schmalen, seichten, zirkulär verlaufenden Furche umgeben. Die zentrale, lochartige Vertiefung ist nur noch angedeutet. Durchsichtigkeit und Irisieren haben stark ab-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

genommen. Die Granulierung, an der Peripherie noch deutlich wahrnehmbar, verdichtet sich rasch gegen das Zentrum; entsprechend der zirkulären Furche der Stutzfläche ist sie schon ganz verschwunden. Im auffallenden Licht bemerkt man, daß, ähnlich den gleich alten Kolonien des St. 5, das weißliche Zentrum mit einem schmalen, graulichen Band umgeben ist; die peripheren Anteile der Ansiedlung erscheinen dann wieder in weißer Farbe.

3. Beobachtungstag. Die Kolonie ist durch weiteres Wachstum der Randpartien breiter und flacher geworden. Die zentrale Erhebung besitzt an der Basis und an der Spitze 2 feine zirkuläre Leisten, von denen die untere peripher in die schmale, seichte Furche, die obere zentral in die lochartige Vertiefung übergeht. In bezug auf die Durchsichtigkeit und die Granulierung lassen sich keine wesentlichen Veränderungen feststellen. Das im auffallenden Licht beobachtete graue Band, ebenso wie der zentrale weiße Fleck, haben stark abgenommen und sind bloß noch angedeutet.

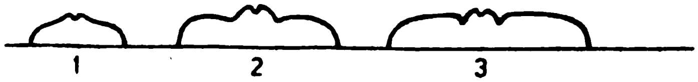


Fig. 8. Schematische Dartellung. 1 erster, 2 zweiter, 3 dritter Beobachtungstag.

In den folgenden Tagen sind die Kolonien noch breiter und platter geworden. Die zentrale Erhebung ist nur noch angedeutet. Die Kolonie wird ganz opak milchig-weiß; Knopfbildung (Tochterkolonien) schon am 4. Tage deutlich.

Typus 9.

(Stamm 33 der kulturellen Gruppe IV.)

1. Beobachtungstag. Die Kolonie stellt sich als ein gut ausgebildeter, kreisrunder Kuppenstutz dar, dessen Randpartien unter scharfer Knickung, aber ohne Kantenbildung, in die Stutzfläche übergehen. Die zentralen Anteile der Stutzfläche heben sich sanft aufsteigend, etwas konusartig empor und besitzen eine lochartige, scharfrandige Vertiefung. Ein auslaufender, mäßig ausgebildeter Randsaum mit radiärer Lähmung ergänzt das Bild. Durchsichtigkeit gering, mit einer grauen, zentralen Verfärbung. Die mäßig großen, stark irisierenden Granula stehen an der Peripherie in lockerer Anordnung, bilden rhombusartige Figuren; gegen das Zentrum stehen sie mehr gleichmäßig verteilt in dichter Anordnung.

2. Beobachtungstag. Die Kolonie nimmt die Form eines flachen Kegelstutzes an und hat durch besonderes Wachstum der Randpartien an Breite stark zugenommen. Die Stutzfläche fällt senkrecht auf die Seitenpartien ab, welche sich dann nach einer kleinen Einbuchtung, die ein Furche vortäuscht, mäßig steil und sehr leicht konvex gegen die Peripherie fortsetzen. Der Randsaum ist durch die Randpartien des Kegelstutzes vollkommen eingezogen und gänzlich verschwunden. Die Oberfläche der Randpartien ist rauh, die der Stutzfläche sehr glatt. Die zentrale Erhebung ist verschwunden, nur das zentrale, gut ausgebildete Loch ist vorhanden. Die Granuliezung der Seitenpartien ist, wie tags zuvor, nur mäßig verdichtet, im Zentrum, entsprechend der Stutzfläche, gänzlich verschwommen. Das Irisieren ist noch ziemlich stark; die Durchsichtigkeit hat dagegen, wenn auch nur mäßig, aber deutlich abgenommen.

3. Beobachtungstag. Die Kolonie ist durch weiteres Wachstum der Randpartien breiter und dementsprechend flacher geworden. Die Stutzfläche fällt nicht mehr steil senkrecht auf die Seitenpartien herab, sondern ist mit einer zirkulär verlaufenden, gut entwickelten und ziemlich tiefen Furche umgeben, deren periphere Begrenzung bildende Kante etwas tiefer steht als die Stutzfläche. Durchsichtigkeit stark herabgesetzt; Irisieren und Granulierung bloß noch an der äußersten Peripherie nachweisbar. Sonst sind keine wesentlich veränderten Merkmale zu verzeichnen.

In den folgenden Tagen sind die Randpartien sehr flach ausgebreitet und heben sich nur sanft von der Nährbodenfläche empor. Im Bereiche der Randpartien bilden sich konzentrisch verlaufende, feine Abstufungen (Etagen).

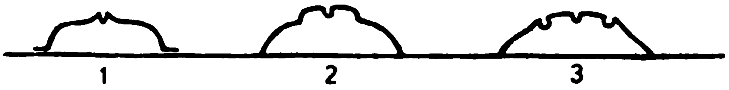


Fig. 9. Schematische Darstellung. 1 erster, 2 zweiter, 3 dritter Beobachtungstag.

Typus 10.

(Stamm 55 der kulturellen Gruppe IV.)

Am 1. Beobachtungstag zeigen die Kolonien dasselbe Verhalten wie beim

Typ. 7 und 8. Allein die gelblich-graue Farbe der zentralen Partien der Kolonie fällt als besonderes Merkmal auf.

2. Beobachtungstag. Die Kolonie besitzt die Form eines typischen Kegelstutzes mit einer stark ausgebildeten Stutzfläche, die von den Seitenpartien durch eine scharfe Kante abgetrennt wird. Die Oberfläche der Stutzfläche ist sehr rauh und stark gehöckert, weist auch ein zentrales Loch auf. Die Seitenwände sind nur mäßig rauh. In auf- und durchfallendem Licht erscheinen die mittleren Partien der Kolonie, entsprechend der ganzen Stutzfläche, grau-gelb; im auffallenden Licht ist im innersten Zentrum, innerhalb des gelben Feldes, noch ein kleiner weißer Fleck wahrnehmbar. Die Durchsichtigkeit hat stark abgenommen, ebenso das Irisieren. Die Granulierung ist dichter geworden, doch ist an der Peripherie die Rhombusanordnung noch deutlich und verschwindet nur im gelben Zentrum gänzlich.

Am 3. Beobachtungstag zeigen die Seitenwände gegen die Stutzfläche einen konkaven Verlauf, fallen aber in einem mäßig konvex ausgebildeten Bogen ziemlich steil auf die Nährbodenfläche herab. Die Kolonie ist breiter und platter geworden. Die Seitenwände gehen ohne scharfe Kante in die Stutzfläche über, die jetzt weniger rauh erscheint als am Vortage. Die zentrale lochartige Vertiefung ist dagegen noch immer deutlich. Ebenso ist auch der zentrale gelbe Fleck gut ausgebildet und noch dunkler, wenn auch etwas kleiner geworden. Granulierung und Irisieren sind gänzlich verschwunden.

In den folgenden Tagen treten an den Randpartien sehr fein ausgebildete, zirkulär verlaufende Furchen, Abstufungen, auf, die der Kolonie das Bild einer Etagenanordnung geben. Vom 4. Tage an sind auch Tochterkolonien (Knopfbildung) wahrzunehmen.

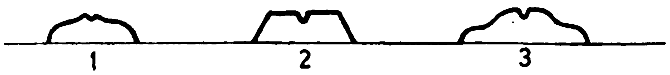


Fig. 10. Schematische Darstellung. 1 erster, 2 zweiter, 3 dritter Beobachtungstag.

Typus 11.

(Stämme 24, 25, 39, 40, 45 der kulturellen Gruppe V und Stämme 50 (66) und 58 der kulturellen Gruppe III.)

1. Beobachtungstag. Die Kolonie stellt sich als eine kreisrunde Platte dar, deren zentrale Anteile wulstig konusartig sich emporheben und an den kleineren Kolonien eine deutliche, an den größeren, besser entwickelten Kolonien schon kaum merkbare, feine, lochartige Vertiefung besitzen. Peripher wird die zentrale Erhebung durch eine seichte, schmale Furche begrenzt, die, zentral allmählich aufsteigend, in die konusartige Erhebung übergeht, peripher sich nach anfänglicher Steigerung bogenförmig, ohne besondere Knickung in die Seitenpartien fortsetzt. Der flach auslaufende, unregelmäßig radiär gezähnte und von der Platte sich scharf absetzende Randsaum recht schmal. Die Oberfläche mäßig rauh gehöckert. Mittelgroße, wenig irisierende Granula sind gleichmäßig verteilt, zeigen eine feine Rhombusanordnung, die weit gegen das Zentrum der Kolonie erkennbar ist und sich nur allmählich verdichtet.

2. Beobachtungstag. Die Kolonie besitzt die Form eines Kegelstutzes; ihre äußersten Randpartien erheben sich sehr steil, fast senkrecht von der Basis, um dann bald unter scharfer Knickung schief, mäßig konkav weiter zu steigen. Randsaum verschwunden; am Rande der Stutzfläche eine seichte, zirkulär verlaufende Furche, die peripher unter einer scharfen Kante in die Seitenwand, zentral dagegen sanft aufsteigend in eine feine, zentrale, kuppenförmige Erhebung übergeht. Die zentrale, lochartige Vertiefung ist noch deutlich wahrnehmbar. Die Oberfläche der Kolonie ist mehr glatt geworden. Durchsichtigkeit hat stark abgenommen; Granulierung nur noch an der Peripherie sichtbar, stark verdichtet und die Rhombusanordnung ist nicht mehr erkenntlich.

Am 3. Beobachtungstag ist die Kolonie durch das weitere Wachstum der Randpartien breiter und flacher geworden, zeigt eine stark konkav verlaufende Seitenwand, die konvex bogenförmig auf die Nährbodenfläche herabfällt. Die Kante, welche die Stutzfläche von der Seitenwand abgrenzt, hat an Schärfe verloren. Sonst lassen sich keine wesentliche Veränderungen feststellen.

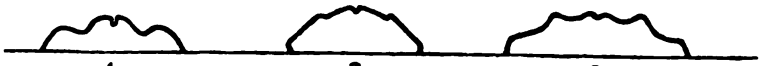


Fig. 11. Schematische Darstellung. 1 erster, 2 zweiter, 3 dritter Beobachtungstag.

In den folgenden Tagen hat die Kolonie an Breite noch zugenommen. Im Bereiche der Randpartien bilden sich konzentrisch verlaufende, feine Abstufungen (Etagen), die meist nur bei Lupenvergrößerung sichtbar sind, oder oft nur angedeutet bleiben.

Neben den oben beschriebenen Normen kommen auch einzelne abweichende Formen vor, die vielleicht als Zeichen einer Degeneration betrachtet werden können und deren Haupttypus folgende Merkmale aufweist: Am 1. Beobachtungstag ist die Kolonie einer kreisrunden, im Zentrum milchig-weißen, ganz opaken Kuppe ähnlich, deren Randpartien sich ziemlich steil und geradlinig von der Basis erheben. Der schwach ausgebildete, meist nur angedeutete, fein radiär gezähnte Randsaum liegt flach der Nährbodenfläche auf und setzt sich dadurch von der steil aufsteigenden Kolonie scharf ab. Oberfläche rauh, zeigt in der Mitte eine meist starke, kraterförmige Delle. Die großen, groben, stark irisierenden Granula der Peripherie stehen in feiner, nur angedeuteter Rhombusanordnung und verdichten sich nur langsam gegen das Zentrum der Kolonie. 2. Beobachtungstag: Die Kolonie stellt sich als ein Kegelstutz dar; an Stelle der Stutzfläche befindet sich aber eine wulstige, kuppenförmige Erhebung, die in einem steilen Bogen fast senkrecht auf die Seitenwand abfällt. Die Seitenwände besitzen zirkulär verlaufende, dicht stehende, feine, oft nur angedeutete Furchen. Im Zentrum der Kolonie befindet sich eine feine lochartige Vertiefung. Randsaum stark verkleinert, aber meist noch deutlich wahrnehmbar. Granulierung und Durchsichtigkeit zeigen keine großen Unterschiede gegenüber dem Haupttypus. Am 3. Beobachtungstag sind die Randpartien recht flach ausgebreitet; die mittlere Erhebung liegt oft ganz exzentrisch. Die zirkulär verlaufenden Furchen an den Randpartien sind deutlicher geworden und geben der Kolonie das Bild einer Etagenanordnung mit entsprechenden Abstufungen. Der auslaufende Randsaum ist verschwunden oder nur noch angedeutet. Die Granulierung ist bloß an der äußersten Peripherie sichtbar. Sonst, ebenso wie auch in den folgenden Tagen, sind keine wesentlich veränderten Merkmale zu verzeichnen.

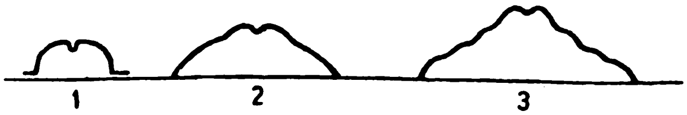


Fig. 12. Schematische Darstellung. 1 erster, 2 zweiter, 3 dritter Beobachtungstag.

Typus 12.

(Stamm 4 der kulturellen Gruppe VI.)

1. Beobachtungstag. Kolonie von der Form eines Kuppenstutzes, dessen zentrale Anteile etwas kuppenförmig sich emporheben und eine lochartige, kleine Vertiefung besitzen. Der flach auslaufende Randsaum geht allmählich aufsteigend in einem leicht konkaven Bogen in die eigentliche Kolonie über. Mäßig große, stark grünlich-violett irisierende Granula sind gleichmäßig verteilt und lassen bis weit gegen das Zentrum eine deutliche Rhombusanordnung erkennen.

Am 2. Beobachtungstag ist die Kolonie breiter und flacher geworden, stellt sich als eine Platte dar, deren Form einen Uebergang in einen Kegelstutz andeuten läßt. Die äußersten Randpartien fallen steil, senkrecht auf die Nährbodenfläche herab und überdecken durch weiteres Wachstum den Randsaum vollkommen. Die Seitenwand geht in einem sanften Bogen in die obere Plattenfläche (Stutzfläche) über, die peripher eine zirkulär verlaufende, breite, flache Furche und zentral eine aufgesetzte Kuppe besitzt. An der aufgesetzten Kuppe befindet sich noch eine kleine, zentrale, kuppenförmige Erhebung, ohne oder nur mit einer angedeuteten zentralen Vertiefung. Die Oberfläche der Kolonie ist ziemlich glatt. Die Granulierung hat sehr stark abgenommen; das Irisieren ist noch vorhanden.

3. Beobachtungstag. Die Kolonie hat an Breite noch beträchtlich zugenommen, in erster Linie durch hervortretendes Wachstum der Randpartien, die aber noch immer steil, senkrecht auf die Basis herabfallen. Sonst lassen sich keine wesentlichen Veränderungen feststellen.

In den folgenden Tagen wird die Kolonie noch flacher und mehr abgeplattet. Im Bereiche der Randpartien bilden sich exzentrisch verlaufende, zirkuläre, feine Abstufungen (Etagen). Die Kolonie ist stark opal; im Zentrum befindet sich ein blaues Band mit einem kleinen, zentralen, weißen Fleck, ähnlich wie beim Typ. 1.

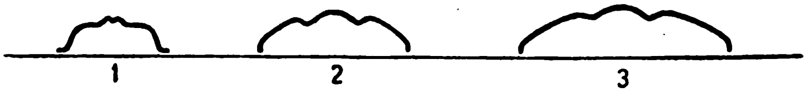


Fig. 13. Schematische Darstellung. 1 erster, 2 zweiter, 3 dritter Beobachtungstag.

Typus 13.

(Stamm 16 der kulturellen Gruppe VII.)

1. Beobachtungstag. Kolonie von der Form eines gut entwickelten, kreisrunden Kuppenstutzes, der durch einen neu angedeuteten, schmalen Randsaum begrenzt ist. Der Randsaum geht unter allmählicher, konkaver Steigerung in die Seitenpartien der Kolonie über, die sich dann nach einer scharfen Biegung (ohne Kantenbildung) in die Stutzfläche fortsetzen. Die zentralen Anteile der Stutzfläche heben sich sehr leicht, meist nur angedeutet, empor und besitzen eine feine, meist nur wenig ausgebildete Delle. Die Oberfläche, besonders die der Stutzflächen, ist rauh, gehärtet; die Farbe der Kolonie im durchfallenden Licht schmutzig-grau-violett. Die stark irisierenden Granula stehen an der Peripherie in sehr regelmäßiger Rhombusanordnung, die wieder in Viereckfiguren gestellt ist und sich gegen das Zentrum nur allmählich verdichtet.

2. Beobachtungstag. Die Kolonie erscheint jetzt in der Form eines regelmäßig ausgebildeten Kegelstutzes mit einer kleinen, kreisrunden Stutzfläche mit in der Mitte sehr breiter, tiefer Delle. Die zentrale Erhebung ist verschwunden. Die Stutzfläche fällt peripher steil, fast senkrecht auf die Seitenwand ab, in welche sie dann unter scharfer Knickung übergeht. Die Seitenwand ist mäßig steil und leicht konvex. Die Durchsichtigkeit hat stark abgenommen, besonders die der mittleren Partien, die im durchfallenden Lichte ganz opak erscheinen. An der Peripherie ist die Granulierung noch vorhanden; sie weist noch eine deutliche, wenn auch schon mäßig verdichtete Bhombusanordnung auf.

Am 3. Beobachtungstag ist die Kolonie durch weiteres Wachstum der Seitenpartien breiter und flacher geworden. Die Seitenpartien zeigen einen mäßig konkaven Verlauf, fallen aber in einem sanft konvexen Bogen auf die Nährbodenfläche ab. Die Stutzfläche ist im Verhältnis zu den Seitenpartien kleiner geworden und geht allmählich in dieselben über; sonst keine wesentlich veränderten Merkmale.

In den folgenden Tagen ist die Kolonie noch flacher geworden. Am äußersten Rand hat sich ein Wucherungswall ausgebildet.

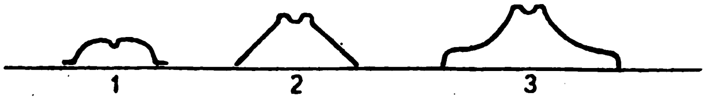


Fig. 14. Schematische Darstellung. 1 erster, 2 zweiter, 3 dritter Beobachtungstag.

Typus 14.

(Stamm 20 der kulturellen Gruppe VIII.)

1. Beobachtungstag. Die Kolonie ist einer flachen, kreisrunden Platte ähnlich, die sanft bogenförmig auf die Nährbodenfläche abfällt: Die Oberfläche mäßig rauh, gehöckert; die Kolonie besitzt eine zentrale, feine, lochartige Vertiefung. Granulierung weist sehr gut ausgebildete Rhombusfiguren in karrierter Anordnung auf, mit mäßigem Irisieren.

2. Beobachtungstag. Die Kolonie ist breiter und flacher geworden, hebt sich geradlinig, steil von der Basis empor, um dann unter einer scharfen Kante in die obere Plattenfläche überzugehen. Durch kräftiges Wuchern der zentralen Partien kommt e zur Entwicklung einer aufgesetzten, gut entwickelten, oft exzentrisch gelegenen Kuppe mit kraterförmiger, breiter, tiefer, unregelmäßig begrenzter Delle. Oberfläche der Platte ist auffallend glatt; die der aufgesetzten Kuppe mehr rauh, gehöckert. Die Durchsichtigkeit hat, besonders entsprechend der aufgesetzten Kuppe, stark abgenommen. Granulierung nur an der äußersten Peripherie erkenntlich.

Am 3. Beobachtungstage hat die Kolonie an Breite mäßig zugenommen, sonst keine wesentlichen Veränderungen.

In den folgenden Tagen kommt es durch weiteres flächenhaftes Wachstum der Seitenpartien zur Bildung eines unregelmäßig gefalteten Randsaumes. Kolonie noch breiter geworden. Durchsichtigkeit stark herabgesetzt. Die zahlreichen Tochterkolonien (Knöpfe) ergänzen noch das Bild in diesen Tagen.

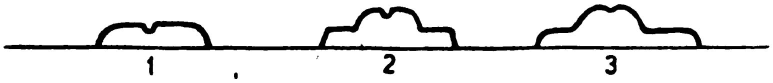


Fig. 15. Schematische Darstellung. 1 erster, 2 zweiter, 3 dritter Beobachtungstag.

Typus 15.

(Stamm 30 der kulturellen Gruppe XI.)

1. Beobachtungstag. Kolonie von der Form einer sehr flachen, kreisrunden

Platte, deren zentrale Anteile etwas konusartig sich emporheben; sie fällt mit ihren Seitenpartien sehr steil, fast senkrecht auf die Nährbodenfläche ab. Oberfläche mäßig rauh, gehöckert. Die groben, sehr stark irisierenden, opaleszierenden Granula stehen an der Peripherie in schütterer Anordnung und verdichten sich gegen das Zentrum. Ein Zusammentreten zu rhombusartigen Figuren ist undeutlich sichtbar, meist nur angedeutet.

2. Beobachtungstag. Die Kolonie hat an Breite stark zugenommen. Die Erhebung der zentralen Anteile besitzt die Form eines gut ausgebildeten, aufgesetzten Kegels und an vereinzelten Kolonien weist sie noch eine sehr feine, lochartige Vertiefung auf. Der aufgesetzte Kegel ist mit einer seichten, aber breiten Furche umgeben, die zentral nur allmählich in den aufgesetzten Kegel übergeht und peripher durch eine scharfe Kante begrenzt wird. Oberfläche des aufgesetzten Kegels und der zirkulär verlaufenden Furche glatt, die der Platte mehr rauh, mäßig gehöckert. Durchsichtigkeit, ebenso das Irisieren haben stark abgenommen. Granulierung ist sehr undeutlich geworden; am äußersten Rande noch eine halb verschwommene Rhombusanordnung ersichtlich, die gegen das Zentrum vollkommen verschwindet. Farbe der Kolonie im auffallenden Lichte weißlich-opak; entsprechend der zirkulär verlaufenden Furche an der oberen Plattenfläche ein schmales, graues Band.

Am 3. Beobachtungstage ist die Kolonie noch breiter und flacher geworden und erhebt sich mit leicht kuppenartig gewölbten Randpartien von der Nährbodenfläche. Die zirkulär verlaufende Furche, die den aufgesetzten Kegel umgeben hat, ist verschwunden, auch der zentrale Kegel ist im Verhältnis zur Kolonie klein und undeutlich geworden. Das zirkuläre, graue Band ist im auffallenden Lichte noch deutlich wahrnehmbar. Sonst keine auffallenden Veränderungen.

In den folgenden Tagen ist der aufgesetzte Kegel noch kleiner geworden; Oberfläche an der ganzen Kolonie von einer gleichmäßig glatten Beschaffenheit. An manchen, besonders an alleinstehenden Kolonien haben sich Knöpfe (Tochterkolonien) ausgebildet.

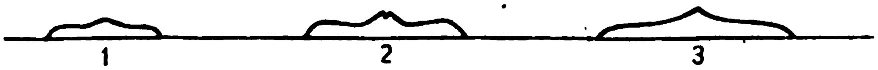


Fig. 16. Schematische Darstellung. 1 erster, 2 zweiter, 3 dritter Beobachtungstag.

Typus 16.

(Stamm 32 der kulturellen Gruppe XII.)

1. Beobachtungstag. Kolonie von der Form eines kleinen, kreisrunden Kuppenstutzes mit aufgesetzter, meist gut ausgebildeter, breiter Kuppe, welche zentral eine deutliche lochartige Vertiefung besitzt. Die peripheren Anteile der Stutzfläche von den Randpartien der Kuppe durch einen seichten, ringförmig verlaufenden Graben abgetrennt. Die aufgesetzte Kuppe hebt sich scharf, ohne allmählichen Uebergang, von der Stutzfläche empor. Die kuppenförmig gewölbten Randpartien gehen unter einer scharfen Kante in die Stutzfläche über. Randsaum fehlt. Die sehr starken, perlmutterartig irisierenden Granula stehen an der Peripherie in schütterer, zirkulärer Anordnung und verdichten sich, entsprechend dem Uebergang in die Stutzfläche, rasch gegen das Zentrum. Oberfläche der Kolonie mäßig glatt.

2. Beobachtungstag. Die Kolonie wird zu einem regelmäßig ausgebildeten Kegelstutz mit steilen Wänden; die leicht gewölbte, kleine Stutzfläche besitzt eine angedeutete, feine, zentrale Delle. Die Randpartien der Kolonie gehen unter scharfer Knickung, aber ohne besondere Kante, in die Stutzfläche über. Die Oberfläche, in erster Linie die der Stutzfläche, mäßig, aber deutlich rauh. Durchsichtigkeit und Irisieren haben stark abgenommen. Granulierung nur an der Peripherie sichtbar.

3. Beobachtungstag. Durch hervortretendes Wachstum der Seitenpartien ist die Kolonie stark verbreitet und nimmt die Form einer flachen Platte mit einem aufgesetzten Kegelstutz an. Der aufgesetzte Kegelstutz weist die tags zuvor beschriebenen Merkmale auf, hebt sich sanft aufsteigend empor und geht allmählich in die Platte über. Manche Kolonien zeigen eine exzentrische Lage des aufgesetzten Kegelstutzes. Die Kolonie ist recht opak.

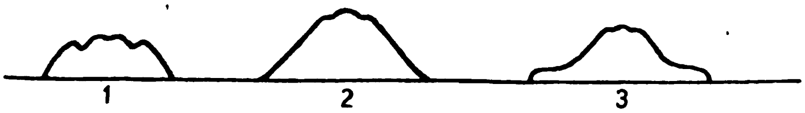


Fig. 17. Schematische Darstellung. 1 erster, 2 zweiter, 3 dritter Beobachtungstag.

In den folgenden Tagen treten an den Randpartien zirkulär verlaufende, zueinander ziemlich dicht stehende Abstufungen (Etagen) auf. Ebenso beobachtet man die Bildung von Tochterkolonien (Knöpfen), die bei diesem Typus ein besonders charakteristisches Bild geben, indem man an den einzelnen Kolonien außerordentlich zahlreiche, kleine, weiße Knötchen findet; die Kolonie erscheint wie mit Zuckerpulver bestreut.

Typus 17.

(Stamm 42 der kulturellen Gruppe XV.)

Am 1. Beobachtungstage besitzt die Kolonie die Form eines gut ausgebildeten, kreisrunden Kuppenstutzes mit mäßig steil aufsteigenden, gewölbten Seitenpartien, die in scharfem Bogen, aber ohne Kantenbildung, in die Stutzfläche übergehen. Randsaum fehlt. Die zentralen Anteile der Stutzfläche heben sich kuppenförmig empor, ohne zentrale Delle. Die aufgestellte Kuppe besitzt eine breite Basis, so daß von der Stutzfläche nur noch ein schmales Band an der Peripherie frei bleibt. Oberfläche auffallend glatt, feucht-glänzend. Die mäßig, aber deutlich irisierenden Granula lagern sich in den peripheren Anteilen in Rhombusfiguren und verdichten sich nur allmählich gegen das Zentrum.

2. Beobachtungstag. Kolonie in Form eines flachen Kegelstutzes mit sehr stark konkav aufsteigenden Seitenwänden; von der Stutzfläche durch scharfe Kante getrennt. Die Stutzfläche erhebt sich fast in ihrer ganzen Ausdehnung kuppenförmig und weist nur an ihrem peripheren Anteil eine seichte, schmale, zirkuläre Furche auf. Oberfläche der Stutzfläche fein gehöckert, die der Seitenwand ganz glatt, feucht glänzend. Durchsichtigkeit und Irisieren haben sehr stark abgenommen. Die Kolonie recht opak. Granulierung nur an der äußersten Peripherie und nur ganz undeutlich sichtbar.

3. Beobachtungstag. Kolonie durch hervortretendes Wachstum der Randpartien breiter und flacher, so daß die ursprüngliche Kegelstutzform kaum mehr zu erkennen ist. Sonst keine wesentlich veränderten Merkmale.

In den folgenden Tagen treten in den Randpartien konzentrisch verlaufende feine Abstufungen (Etagen) auf. Die Kolonie nimmt an Breite noch zu. Wesentliche Veränderungen aber nicht feststellbar.

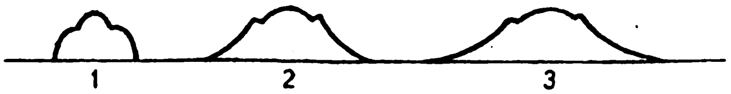


Fig. 18. Schematische Darstellung. 1 erster, 2 zweiter, 3 dritter Beobachtungstag.

Typus 18.

(Stämme 49, 60 der kulturellen Gruppe XVI.)

1. Beobachtungstag. Kolonie von der Form eines kleinen, kreisrunden Kuppenstutzes, dessen Stutzfläche in einem ziemlich scharfen Bogen, aber ohne Kantenbildung, in die steil abfallende Seitenwand übergeht. Die zentralen Anteile der Stutzfläche heben sich stark kuppenförmig empor. Die aufgesetzte Kuppe wird ringsum durch einen seichten aber breiten Graben begrenzt; der periphere Rand desselben ist fein gerunzelt; die Runzeln weisen eine zarte, radiäre Anordnung auf. Oberfläche glatt. Die deutlich irisierenden, ziemlich großen Granula an der Peripherie in undeutlich ausgebildeten Rhombusfiguren verteilt, verdichten sich rasch gegen das Zentrum, wo sie gänzlich verschwinden.

2. Beobachtungstag. Die Kolonie von der Form eines flachen, aber gut ausgebildeten Kegelstutzes mit breiter, von der Seitenwand durch eine scharfe Kante abgetrennter Stutzfläche. Die aufgesetzte Kuppe ist zu einem flachen Kuppenstutz mit einer aufgesetzten, kleinen Kuppe ausgebildet. Zentrales Loch fehlt. Im geometrischen Charakter der Kolonie sind keine sonstigen Veränderungen aufgetreten. Durchsichtigkeit und Irisieren haben stark abgenommen. Die Granulierung ist selbst in den peripheren Anteilen dichter geworden; die Rhombusanordnung ist gänzlich verschwunden.

3. Beobachtungstag. Die zentrale Erhebung im Verhältnis zur ganzen Kolonie kleiner, der Graben, welcher sie umgibt, breiter und tiefer, sonst keine wesentlich veränderten Merkmale.

In den folgenden Tagen ist die zentrale Erhebung noch kleiner und undeutlicher geworden. Durch hervortretendes Wachstum der Randpartien hat die Kolonie an Breite zugenommen. An den Randpartien zirkulär verlaufende Abstufungen (Etagen) und am 6. Tage beginnt auch die Knopfbildung (Tochterkolonie) an einzelnen Kolonien. Im auffallenden Lichte beobachtet man in den mittleren Anteilen der Kolonie ein blaues, vermutlich durch Lackmusfarbstoff gefärbtes Band mit weißem, zentralem Fleck.

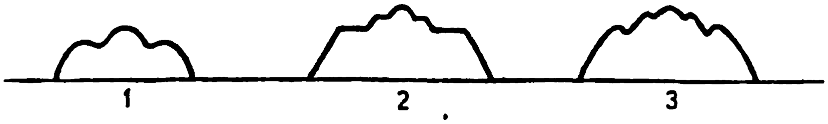


Fig. 19. Schematische Darstellung. 1 erster, 2 zweiter, 3 dritter Beobachtungstag.

Typus 19.

(Stamm 56 der kulturellen Gruppe XVIII.)

1. Beobachtungstag. Die Kolonie stellt sich als kleine, kreisrunde Platte dar, deren zentrale Anteile eine kuppenförmige oder mehr kuppenstutzförmige Erhebung bilden mit feiner, lochartiger Vertiefung. Randpartien erheben sich ziemlich steil, fast geradlinig von der Basis und gehen unter scharfem Bogen in die obere Plattenfläche über. Die äußerst stark perlmutterartig irisierenden Granula stehen an der Peripherie in schütterer, aber deutlicher Rhombusanordnung und verdichten sich rasch gegen das Zentrum.

2. Beobachtungstag. Die Kolonie hat an Breite zugenommen und ist flacher geworden. Die aufgesetzte Kuppe ist von einer schmalen, aber gut ausgebildeten, zirkulär verlaufenden Furche umgeben, die peripher eine scharfe Kante besitzt und zentral allmählich in die aufgesetzte Kuppe übergeht. Durchsichtigkeit stark herabgesetzt gegenüber dem Vortag; das perlmutterartige, starke Irisieren der peripheren Anteile ist aber noch deutlich wahrnehmbar. Granulierung dichter geworden.

3. Beobachtungstag. Kolonie durch hervortretendes Wachstum der Randpartien noch breiter und flacher; die aufgesetzte Kuppe kleiner und durch zwei seichte, konzentrisch verlaufende Furchen begrenzt, die durch eine gut ausgebildete Leiste voneinander getrennt sind. Die Durchsichtigkeit hat noch weiter abgenommen, das perlmutterartige Irisieren ist aber noch vorhanden. Die Granulierung ist vollkommen verschwunden. Die Kolonie ist ganz opak, weiß.

In den folgenden Tagen nimmt die Kolonie an Breite noch zu, weist vom 5. Tage an Tochterkolonien (Knöpfe) auf. Sonst keine wesentlichen Veränderungen.

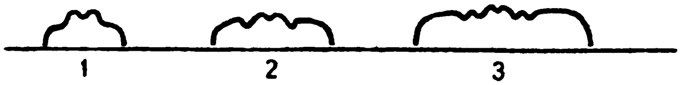


Fig. 20. Schematische Darstellung. 1 erster, 2 zweiter, 3 dritter Beobachtungstag.

Typus 20.

(Stamm 59 der kulturellen Gruppe XIX.)

1. Beobachtungstag. Kolonie von der Form eines kleinen, kreisrunden Kuppenstutzes, dessen Seitenwand sich steil von der Basis erhebt und unter scharfer Knickung in die Stutzfläche übergeht. Die Stutzfläche besitzt eine zentrale aufgesetzte Kuppe, die peripher mit einer nur undeutlich ausgebildeten Furche umgeben ist. Oberfläche der ganzen Kolonie auffallend glatt und nur wenig glänzend. Durchsichtigkeit gering. Kolonie opak und weist starkes Irisieren auf. Die Granulierung nur an der äußeren Peripherie, in Form eines Bandes sichtbar, das aus undeutlich ausgebildeten, mäßig großen, ziemlich dicht verteilten Granulis besteht.

2. Beobachtungstag. Kolonie von der Form eines steilen Kegelstutzes mit kleiner, kreisrunder Stutzfläche, welche zentral eine kleine, kuppenförmige Erhebung aufweist. Die Seitenwand geht unter scharfer Knickung, aber ohne Kantenbildung in die Stutzfläche über. Oberfläche wie am Vortage auffallend glatt, leicht glänzend; Durchsichtigkeit und Irisieren stark abgenommen. Die tags zuvor undeutliche Granulierung vollkommen verschwunden.

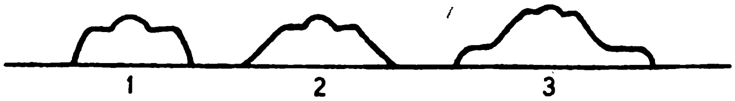


Fig. 21. Schematische Darstellung. 1 erster, 2 zweiter, 3 dritter Beobachtungstag.

3. Beobachtungstag. Durch hervortretendes, flächenhaft ausgebreitetes Wachstum der Seitenpartien wird die Form der Kolonie zu einer flachen Platte mit aufge-

setztem Kegelstutz, der sich allmählich von der oberen Plattenfläche erhebt und dieselben Strukturverhältnisse aufweist wie am Vortage. Optische Merkmale ohne wesentliche Veränderungen.

In den folgenden Tagen auf dem aufgesetzten Kegelstutz und an den Randpartien der Platte ringförmige, feine, konzentrisch verlaufende Abstufungen (Etagen). Sonst keine wesentlichen Veränderungen.

Typus 21.

(Stamm 61 der kulturellen Gruppe XX.)

1. Beobachtungstag. Kolonie von der Form einer kreisrunden, gut entwickelten, feucht glänzenden Platte mit undeutlich ausgebildetem Randsaum, der konkav aufsteigend in die Seitenpartien übergeht, während diese wieder nach einer sanften Biegung in die obere Plattenfläche übergehen. Die zentralen Anteile der oberen Plattenfläche leicht emporgehoben und mit sehr schmaler, seichter, zirkulär verlaufender Furche umgeben. Eine scharfe Kante bildet die periphere Begrenzung der Furche, während sie, zentral allmählich aufsteigend, in die zentrale Erhebung übergeht. Zentrale Delle fehlt. Kolonie opak, stark irisierend. Die Granulierung besteht an der Peripherie aus groben, mittelgroßen Granulis, die sich gegen das Zentrum rasch verdichten; die Kolonie wird so von den Granulis in Form eines Bandes umgeben.

Am 2. Beobachtungstage hat sich die Kolonie zu einem flachen Kuppenstutz ausgebildet mit nur sehr sanft aufsteigenden, mäßig bogenförmig gewölbten Seitenpartien, die unter scharfer Knickung, aber ohne Kantenbildung, in die Stutzfläche übergehen. Die Seitenwand ist fein gekörnt, von rauher Beschaffenheit; die Stutzfläche ist glatter. Die zentralen Anteile der Stutzfläche heben sich kegelstutzförmig sanft empor mit einer glatten, kreisrunden Stutzfläche. Durchsichtigkeit und Irisieren haben sehr stark abgenommen. Die Granulierung ist an der Peripherie weit gegen das Zentrum sichtbar, in schütterer Anordnung.

3. Beobachtungstag. Kolonie ist durch hervortretendes Wachstum der Seitenpartien breiter und flacher geworden, die tags zuvor beschriebenen Strukturverhältnisse sind nur noch angedeutet. Sonst keine wesentlich veränderten Merkmale.

In den folgenden Tagen nimmt die Kolonie die Form einer sehr flachen, weit ausgebreiteten Platte an; die früheren Strukturverhältnisse sind gänzlich verschwunden. Im Bereiche der Randpartien bilden sich konzentrisch verlaufende, feine Abstufungen (Etagen), die meist nur bei Lupenvergrößerung sichtbar sind. Die Kolonie läuft in einen Randsaum aus, der unregelmäßig gefaltet dieselbe begrenzt. Im Zentrum der Kolonie ein blaues Band mit einem weißen, zentralen Fleck. Die blaue Verfärbung des Bandes dürfte, wie bei manchen Stämmen schon oben beschrieben, infolge der Resorption des Lackmusfarbstoffes aus dem Nährboden zustande kommen.

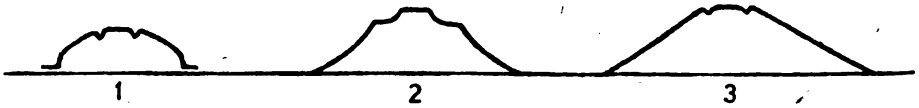


Fig. 22. Schematische Darstellung. 1 erster, 2 zweiter, 3 dritter Beobachtungstag.

Die Stämme 41 und 52, 53, welche bei unseren Versuchen nur als bewegliche Kontrollstämme gedient haben, und die schon kulturell ganz gesondertes Verhalten (Gruppe XIV bzw. Gruppe XVII) gezeigt haben, sind auf ihren Kolonietypus nicht untersucht worden.

Dagegen konnte der Kolonietypus bei den Stämmen 23, 28, 29, 35 und 57 trotz wiederholten Versuchsreihen wegen der Inkonstanz der Kolonieformen und des Auftretens von zahlreichen und sehr verschieden gestalteten Degenerationsformen, auch bei der Verwendung von mehrmaligen Passagen in flacher Bouillonschicht, intermittierend mit Ausstrichen auf Lackmuslaktoseagarplatten[1]) nicht ermittelt worden. Auf die Differenzierung der erwähnten Stämme auf Grund des Kolonietypus mußten wir verzichten.

Auch bei den übrigen Stämmen fällt schon nach den ersten Bouillonpassagen das Auftreten von verschieden gestalteten Kolonieformen auf, die nur als Degenerationsformen gedeutet werden können, so daß der Umzüchtung der Bazillen in Bouillon bald eine Grenze gezogen wird, falls man die ursprüngliche, einheitliche, artcharakteristische Kolonieform erhalten will.

---

1) Vgl. Felsenreich u. Trawiński, a. a. O.

Die genaue Feststellung der einzelnen Kolonietypen der untersuchten Stämme hat bewiesen, daß wir in der angewendeten Methode der Bestimmung des Kolonietypus ein sehr wertvolles Hilfsmittel zur Trennung und Differenzierung der untersuchten Paracoli-Bakterien gewonnen haben. Hat schon die Verfolgung des kulturellen und besonders des serologischen Verhaltens der Stämme ihre Differenzierung und Klassifizierung in weitem Maße ermöglicht, so ist sie durch die Ergebnisse der Untersuchungen über den Kolonietypus in klarer und eindeutiger Weise erweitert und bestätigt worden. Die Erweiterung besteht darin, daß wir Stämme, die wir serologisch nicht untersucht haben oder wegen mangelnder Antikörper (Agglutinin, komplementbindender Ambozeptor)-Bildung nicht untersuchen konnten, mittels der Feststellung ihres Kolonietypus genau differenziert haben. Und, wo wir die Resultate dieser Methode mit denjenigen der serologischen Methode vergleichen können, dort fällt uns auf den ersten Blick ihre vollkommene Uebereinstimmung und Gleichheit auf, und so ergänzt, bestätigt die eine Methode die andere.

Wie wir schon auf Grund des serologischen Verhaltens unserer Stämme festgestellt haben, lehren auch die Ergebnisse der Versuche über den Kolonietypus, daß kulturell gleiche Gruppen verschiedene Bakterieneinheiten enthalten und umgekehrt, kulturell verschiedene Bakterien serologisch und in bezug auf den Kolonietypus zusammengehörend erscheinen, wobei wir die Frage offen lassen, ob dieselben als identisch betrachtet werden können, oder ob ihre kulturelle Verschiedenheit, die geringe Abweichung im fermentativen Abbau von Kohlehydrataten. eine Trennung dieser Stämme erfordert. Die Tatsache, daß kulturell verschiedene Stämme, auch serologisch und in bezug auf ihren Kolonietypus sich in überwiegender Anzahl der untersuchten Stämme verschieden verhalten, spricht jedenfalls für die Bedeutung des kulturellen Verhaltens, des verschiedenen Chemismus der Stämme.

Nach der Feststellung des Kolonietypus der einzelnen untersuchten Stämme gestaltet sich die Differenzierung derselben in folgender Weise:

Die untersuchten 42 Stämme weisen 21 verschiedene Kolonietypen auf, zerfallen also in ziemlich zahlreiche Untergruppen:

1) Die kulturelle Gruppe I (Stämme 1, 38) weist einen einheitlichen Kolonietypus auf.

2) Die Stämme 3, 6, 43, 44 der Gruppe II wachsen in einem gleichen Kolonietypus.

3) Der Stamm 23 der Gruppe II und die Stämme 54, 63 der Gruppe III besitzen den gleichen Kolonietypus.

4) Die Stämme 7, 14, 34 der Gruppe III und der Stamm 15 der Gruppe IV weisen einen einheitlichen Kolonietypus auf.

5) Der Kontrollstamm 22 der Gruppe III bildet einen speziellen Kolonietypus.

6) Der Stamm 26 der Gruppe III besitzt ebenfalls einen speziellen Kolonietypus.

7) Der Stamm 50 (66), 58 der Gruppe III und die Grupp V (die Stämme 24, 25, 39, 40, 45) wachsen in einem gleichen Kolonietypus.

8) Der Stamm 5, der Stamm 33, der Stamm 55 der Gruppe IV bilden je einen speziellen Kolonietypus.

9) Die Stämme 9, 19, 46, 51, 62 der Gruppe IV besitzen einen einheitlichen Kolonietypus.

10) Die Gruppe VI (Stamm 4), VII (Stamm 16), VIII (Stamm 20), XI (Stamm 30), XII (Stamm 32), XV (Stamm 42), XVI (Stamm 49, 60), XVIII (Stamm 56), XIX (Stamm 59), XX (Stamm 61) bilden je einen speziellen Kolonietypus.

Die Tierpathogenität.

Schon die Herstellung von Kaninchenimmunseris ließ die Vermutung zu, daß eine große Anzahl der untersuchten Stämme eine gewisse, mehr oder weniger stark ausgebildete Pathogenität besitzt. Vergiftungserscheinungen, die nur auf Einwirkung von Bakteriengiften, Toxinen, zurückgeführt werden konnten, sind nach Injektion von Bakterienaufschwemmung bei den Kaninchen konstatiert worden. So fiel besonders die Pathogenität des Stammes 39 auf, indem 3 Kaninchen, die mit einer Oese von durch Hitze abgetöteten Bazillen dieses Stammes injiziert wurden, unter Symptomen einer Giftwirkung innerhalb 24 bis 48 Std. zugrunde gegangen sind.

Ausführliche und systematische Versuchsreihen über die Pathogenität unserer Stämme haben wir mit weißen Mäusen ausgeführt. Die Untersuchung erfolgte durch subkutane Impfung von $^1/_2$ ccm einer genau 24-stünd. Bouillonkultur des Stammes. Die Bouillonkulturen sind in der Weise angelegt worden, daß in einer Eprouvette ca. 8—10 ccm Bouillon mit einer Oese des in Frage stehenden Bazillus beimpft wurden. Mit jedem Stamm injizierten wir 2 Mäuse in gleicher Menge ($^1/_2$ ccm) und, falls sie am Leben geblieben sind, wurde die Injektion nach 8 Tagen wiederholt. Da es aber bei manchen Stämmen vorkam, daß die 2 geimpften Mäuse in bezug auf die pathogene Wirkung des betreffenden Stammes kein übereinstimmendes Verhalten aufwiesen, wurde noch eine 3. Maus mit demselben Stamm geimpft, und erst aus den 3 so gewonnenen Resultaten haben wir dann einen Schluß auf die Pathogenität des betreffenden Stammes gezogen. Daß 2 Mäuse gegenüber demselben Stamm in bezug auf die pathogene Wirkung desselben oft ein verschiedenes Verhalten gezeigt haben, kann vielleicht durch die verschiedene individuelle Disposition gegenüber solchen Infektionen erklärt werden. Die Mäuse, welche mit pathogenen Stämmen injiziert wurden, gingen meist in 24—48 Std. zugrunde, doch haben wir auch Mäuse beobachtet, die erst 72—96 Std. nach der Injektion gestorben sind.

Wie aus Tab. XXXI hervorgeht, konnte eine Pathogenität bei zahlreichen untersuchten Stämmen für weiße Mäuse festgestellt werden. Eine genaue Kongruenz zwischen Pathogenität und den übrigen artcharakteristischen Merkmalen konnten wir nicht beweisen, doch heben wir hervor, daß die Vertreter der Gruppe I (St. 1, 38), die Stämme 3, 6, 43, 44 der Gruppe II, die Gruppe XVI (St. 49, 60), die jede für sich eine spezielle Unterart bilden, auch in bezug auf die Pathogenität unter sich ein gleiches Verhalten aufweisen. Dagegen konnte man eine ähnliche Gesetzmäßigkeit bei den übrigen Gruppen nicht beobachten, bloß der Schluß, ob eine Gruppe (Untergruppe) mehr pathogene, oder eher nicht pathogene Eigenschaften aufweist, kann aus dem überwiegend gleichen Verhalten der Vertreter derselben in bezug auf die Pathogenität leicht ge-

Tabelle XXXI.

Geimpft mit 24-stünd. Bouillonkultur				Unter-[1] suchungsbefund
uppe	Stamm	Gestorben	Getötet nach 3 Wochen	
	Stamm 1	—	+	negativ
	„ 38	—	+	„
I	Stamm 3	+	—	positiv
	„ 6	+	—	„
	„ 13	+	—	„
	„ 23	—	+	negativ
	„ 43	+	—	positiv
	„ 44	+	—	„
II	Stamm 7	+	—	positiv
	„ 14	+	—	„
	„ 22	—	+	negativ
	„ 26	+	—	positiv
	„ 34	+	—	„
	„ 50	+	—	„
	„ 54	+	—	„
	„ 57	—	+	negativ
	„ 58	+	—	positiv
	„ 63	+	—	„
	„ 66	+	—	„
V	Stamm 5	—	+	negativ
	„ 9	—	+	„
	„ 15	—	+	„
	„ 19	—	+	„
	„ 33	+	—	positiv
	„ 46	+	--	„
	„ 51	—	+	negativ

Maus	Geimpft mit 24-stünd. Bouillonkultur				Unter-suchungsbefund
	Gruppe	Stamm	Gestorben	Getötet nach 3 Wochen	
27		Stamm 55	+	—	positiv
28		„ 62	+	—	„
29	V	Stamm 24	+	—	„
30		„ 25	+	—	„
31		„ 39	—	+	negativ
32		„ 40	+	—	positiv
33		„ 45	—	+	negativ
34	VI	Stamm 4	—	+	„
35	VII	Stamm 16	+	—	positiv
36	VIII	Stamm 20	+	—	„
37	IX	Stamm 28	+	—	„
38	X	Stamm 29	—	+	negativ
39	XI	Stamm 30	—	+	„
40	XII	Stamm 32	—	+	„
41	XIII	Stamm 35	+	—	positiv
42	XV	Stamm 42	+	—	„
43	XVI	Stamm 49	—	+	negativ
44		„ 60	—	+	„
45	XVIII	Stamm 56	+	—	positiv
46	XIX	Stamm 59	—	+	negativ
47	XX	Stamm 61	+	—	positiv
48	.	B. coli mutabile	—	+	negativ
49	.	B. paracoli Kuhn-Jaiser	—	+	„

zogen werden. So besitzt die kulturelle Gruppe III und V pathogene, die Gruppe IV eher nicht pathogene Eigenschaften.

Die Sektion der verstorbenen Mäuse ergab meist das gleiche Bild: An der Impfstelle keine Reaktion. Akuter Milztumor. Parenchymatöse Leber- und Nierendegeneration. Sehr oft katarrhalische Veränderungen des Dünndarmes. Anatomisch-pathologische Veränderungen anderer Organe konnten bei der makroskopischen Untersuchung derselben nicht festgestellt werden. Von Milz, Herzblut, Galle, Harnblaseninhalt konnte der injizierte Stamm in Reinkulturen gezüchtet werden. Ebenso gelang die Herauszüchtung desselben aus dem Darmtraktus. Manchmal fehlte der Milztumor. Selten konnte an der Impfstelle eine kleine Eiterung, hervorgerufen durch den injizierten Stamm (keine Eiterkokken!), beobachtet werden.

Mäuse, die nach 2-maliger Injektion mit einem Stamm am Leben geblieben sind, sind, wurden nach 3 Wochen getötet, seziert und bakteriologisch untersucht; das Resultat war stets negativ. Stamm 39, der für Kaninchen auffallend pathogen war, wies für weiße Mäuse keine pathogene Wirkung auf.

Schlußsätze.

1) Die Differenzierung der 47 untersuchten unbeweglichen Paracolistämme gelang uns in erster Linie nach Feststellung der Kolonietypen und des serologischen Ver-

---

[1] Unter Untersuchungsbefund verstehen wir das Ergebnis der bakteriologischen Untersuchung nach der Sektion.

haltens derselben, weniger nach ihrem Spaltungsvermögen gegenüber den Kohlehydraten oder ihres morphologischen Charakters.

2) Der Beweglichkeit als artspezifischem Merkmal kann keine Bedeutung beigemessen werden.

3) Nach ihrem kulturellen, biologischen Verhalten lassen sich die untersuchten Paracoli-Bazillen in 20 Gruppen einteilen.

4) Die Milchkoagulation geht mit der Knopfbildung (Mutation) und mit einem dreimaligen Farbenwechsel der Lackmusmolkekulturen parallel. Die Milchgerinnung dürfte dementsprechend durch eine fermentative Spaltung des Milchzuckers erklärt werden.

5) Die Agglutininbildung ist bei den meisten untersuchten Stämmen erschwert, unvollkommen oder fehlt vollständig.

6) Kulturell gleiche Stämme können in bezug auf die serologischen (Agglutination, Komplementbindungsversuche) Methoden und ebenso auf den Kolonietypus ein verschiedenes, kulturell verschiedene Stämme manchmal ein gleiches Verhalten aufweisen, doch entsprechen in der Regel gleichen kulturellen Eigenschaften ein gleiches serologisches Verhalten und gleicher Kolonietypus.

7) Serologisches Verhalten und Kolonietypus gehen miteinander parallel.

8) Eine Verwandtschaft zwischen den untersuchten unbeweglichen Paracolistämmen einerseits und den Bazillen der Paratyphus-, Dysenterie-, engerer (Laktose spaltender) Coligruppe und dem Bact. coli mutabile (Massini) andererseits konnte weder kulturell, noch serologisch oder in bezug auf den Kolonietypus festgestellt werden.

9) Für weiße Mäuse waren 59,5 Proz. der untersuchten Paracoli-Stämme pathogen; einzelne Gruppen enthalten mehr pathogene, wieder andere wenige pathogene Stämme, ohne daß eine genaue Gesetzmäßigkeit aufzufinden ist.

Literaturverzeichnis.

1) **Burk**, Untersuchungen üb. Bakterien d. **Coli**-Gruppe. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 45. 1908. S. 577.)
2) **Burri** u. **Düggeli**, Beiträge z. Systematik d. **Coli-Aërogenes**-Gruppe, nebst Beschreibung einer neuen Methode zur Untersuchung d. Gärungsgase. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 49. 1909. S. 145.)
3) **Konrich**, Klin. Jahrb. Bd. 23. 1910. S. 1; zit. nach **Conradi** u. **Bierast** in **Kolle-Wassermann**. Bd. 6. 1913.
4) **Jaffé**, R., Variationen in d. **Typhus-Coli**-Gruppe. (Arch. f. Hyg. Bd. 76. 1912. S. 145.)
5) **Conradi** u. **Bierast**, Bact. **coli commune** als Krankheitserreger. (**Kolle-Wassermann**, Handb. d. pathogen. Mikroorganism. Bd. 6. 1913.)
6) **Smith**, **Henderson**, J., On the organisms of the typhoid Colon Group and their differentiation. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 68. 1913. S. 151.)
7) **Kligler**, J. J., Studies on the classification of the colon group. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 64. 1915. S. 90.)
8) **Stickdorn**, W., Untersuchungen über die der **Typhus-Coli**-Gruppe angehörigen Erreger von Kälberkrankheiten. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 76. 1915. S. 245.
9) **Clark**, **William Mansfield**, a. **Leebs**, **Herbert** A., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 63. 1916. S. 410.
10) **Rogers**, L. A., **Clark**, **William Mansfield**, a. **Evans**, **Alice** C., Ebenda. Bd. 64. 1916. S. 410.

11) Paltauf, R., Die Agglutination. (Kolle-Wassermann, Handb. d. pathog. Mikroorganism. Bd. 2. 1913.)

12) Wolf, Sidney, Beiträge zur Lehre über die Agglutination mit besonderer Bezugnahme auf die Differenzierung der Coli- und Proteus-Gruppe und auf die Mischinfektion. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 25. 1899. S. 311.)

13) Radzievsky, Beitrag zur Kenntnis des Bact. coli. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 34. 1900. S. 369.)

14) Amiradžibi, S., Zur Frage der Serodiagnose des Bact. coli etc. (Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 6. 1909. S. 308.)

15) Ducamp, Contribution à l'étude de la différenciation du Coli-Bacille et du Bacille typhique. Action des bacilles du groupe Coli-Typho-Dysentérique sur le hydrate de carbone. Lille 1907.

16) Gilbert et Lion, Sem. méd. 1893; zit. nach A. Radzievski l. c.

17) Gilbert, Sem. méd. 1895; zit. nach A. Radzievski l. c.

18) Massini, R., Ueber einen in biologischer Beziehung interessanten Coli-Stamm (Bact. coli mutabile). Ein Beitrag zur Variation bei Bakterien. (Arch. f. Hyg. Bd. 61. 1907. S. 250.)

19) Burk, A., Mutation bei einem der Coli-Gruppe verwandten Bakterium. (Arch. f. Hyg. Bd. 65. 1908. S. 235.)

20) Sauerbeck, E., Ueber das Bact. coli mutabile (Massini) und Coli-Varietäten überhaupt. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 50. 1909. S. 572.)

21) Kowalenko, A., Mutationserscheinungen bei Bakterien. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 66. 1910. S. 277.)

22) Baerthlein, Untersuchungen über Bact. coli mutabile. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 66. 1912. S. 21.)

23) — Ueber Mutationserscheinungen bei Bakterien. (Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 40. 1912. S. 433.)

24) Gildemeister u. Baerthlein, Ueber paratyphusähnliche Stämme. (Ebenda. Bd. 48. 1915.)

25) Trawiński, A., Ueber das Vorkommen von Bakterien der Typhus-Coli-Gruppe im Darminhalt gesunder Schweine, zugleich ein Beitrag zur Differenzierung der Bakterien der engen Paratyphus B-Gruppe. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 83. 1916. S. 117.)

26) Uhlenhuth u. Hübener, Infekt. Darmbakterien d. Paratyphus- u. Gärtner-Gruppe einschließlich Immunität. (Kolle-Wassermann, Handb. d. pathog. Mikroorganism. Bd. 3. 1913.)

27) Deycke u. Reschad-Effendi, Die Dysenterie in Konstantinopel 1904; zit. nach Lentz in Kolle-Wassermann. Bd. 3. 1913.

28) Kemp, Ueber Paradysenterie. (Zeitschr f. Hyg. Bd. 57. 1907. S. 489.)

29) Hutt, Neuer Beitrag z. Kenntnis d. Pseudodysenterie und Paradysenterie sowie die sog. Mutation. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 74. 1903. S. 108.)

30) Lentz, Dysenterie. (Kolle-Wassermann, Handb. d. pathog. Mikroorganism. Bd. 3. 1913. S. 899.)

31) Titze, C., u. Weichel, A., Untersuchungen über die Kälberruhr. (Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. 33. 1910. S. 516.)

32) Bahr, L., Untersuchungen über Aetiologie der Cholera infantum. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 66. 1912. S. 335.)

33) György, P., Ueber paracolibazilläre Infektionen. (Wien. klin. Wochenschr. Bd. 30. 1917. No. 8.)

34) Widal u. Nobécourt, zit. nach Conradi u. Bierast in Kolle-Wassermann. 1913.

35) Schöne, Chr., Nachweis eines atypischen Bacterium coli als Krankheitserreger beim Menschen. (Berlin. klin. Wochenschr. 1909. S. 970.)

36) Schütze, A., Zur Kenntnis der Paracoli-Bazillosen. (Med. Klin. 1910. S. 937.)

37) Meinicke u. Neuhaus, Zur Frage der Paracoli-Bazillen. (Med. Klin. 1909. S. 212.)

38) Klieneberger, Zur Kasuistik der Paracoli-Bazillenseptikämie. (Centralbl. f. Med. 1909. No. 46.)

39) Felsenreich u. Trawiński, Ueber die Bedeutung des Kolonietypus für die Bestimmung und Differenzierung der Bakterienarten der Coli-Typhusgruppe. (Oesterr. Sanitätswes. 1916 u. Wien u. Leipzig (Alfr. Hölder) 1916.)

40) Russ u. Trawiński, Ueber Bakterien der Coli-Typhusgruppe im Pferdemist. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 85.)

41) Zipfel, Zur Kenntnis der Indolreaktion. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 64. 1912.)

42) Altmann, K., u. Schultz, J. H., Verwendung von Bakterienantiforminextrakten als Antigene bei der Komplementbindung. (Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 3. 1909. S. 98.)
43) Burckhardt, J. L., Untersuchungen über Bewegung und Begeißelung der Bakterien und die Verwendbarkeit dieser Merkmale für die Systematik. T. I. Ueber die Veränderlichkeit von Bewegung und Begeißelung. (Arch. f. Hyg. Bd. 82. 1914. S. 235.)
44) Heim, L., Lehrb. d. Bakteriologie. 1911.
45) v. Lingelsheim, zit. nach Felsenreich u. Trawiński (39).
46) Müller, R., Ueber mutationsartige Vorgänge bei Typhus-, Paratyphus- und verwandten Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 42. 1908. Beih. S. 57.)
47) — Mutationen bei Typhus- und Ruhrbakterien. Mutation als spezifisches Kulturmerkmal. (Ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 58. 1911.)
48) Bernhardt, G., u. Markoff, Wl. N., Ueber Modifikationen bei Bakterien. Beitrag zur Frage der sog. Mutation bei Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 65. 1912.)
49) Kligler, J. J., Observations on indolproduction by bacteria of the colon-typhoid group. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 63. 1915. S. 231.)
50) Haenen, G., De l'emploi de l'aldéhyde paradiméthylaminobenzoïque pour différencier le colibacille d'avec le bacille typhique. (Arch. intern. de Pharmacod. T. 15. 1905. p. 255.)
51) Böhme, Die Anwendung der Ehrlichschen Indolreaktion für bakteriologische Zwecke. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 11. 1906.)
52) Vallet, G., et Rimbaud, L., Les bacilles intermédiaires de la famille Coli-Eberth. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 48. 1911. S. 188.)
53) Kuhn, Gildemeister u. Woithe, Ueber bakteriologische Beobachtungen bei Irrenruhr, insbesondere über die Erscheinungen der Paragglutination. (Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. 31. 1911. S. 394.)
54) Sachs, H., u. Ritz, H., Experim. spez. Diagnostik mittels Agglutination. (Kolle-Wassermanns Handb. d. pathog. Mikroorganism. Bd. 3. 1913.)
55) Citron, Methoden der Immunitätsdiagnostik. 2. Aufl., 1912.

Nachdruck verboten.

Beiträge zur Kenntnis der Milzbrand- und milzbrandähnlichen Bazillen.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Kiel (Direktor: Prof. Dr. **Kisskalt**).]

Von Privatdozent Dr. **Gerhard Wagner.**

Mit 2 Tafeln.

I.

Eine unmittelbar aus dem menschlichen Körper gezüchtete Variante des Bac. anthracis.

Varianten des Milzbrandbazillus sind schon zu einer Zeit beobachtet und beschrieben worden, als der Begriff „Mutation“ noch nicht Eingang in die Mikrobiologie gefunden hatte.

So haben **Chauveau** und **Phisalix** Mitteilungen über einen Bac. **anthracis claviformis** veröffentlicht: Ein alter, nur noch für Mäuse virulenter Stamm wurde subkutan an Meerschweinchen verimpft, die der Infektion nicht erlagen. Aus den Leistendrüsen wurde dann regelmäßig ein Stamm gezüchtet, der sich von dem Ausgangsstamm dadurch unterschied, daß die einzelnen Stäbchen nach einigen Tagen an einem Ende eine dicke Auftreibung zeigten, so an Nägel oder Glockenklöppel erinnernd. Aus dieser Verdickung entwickelte sich alsdann eine Spore. Diese anscheinend sprunghaft aufgetretene Variante bewahrte ihr abweichendes Wachstum auch in weiteren

Generationen dauernd; man würde also heute von einer Mutation oder mit Lehmann einer Klonumbildung zu sprechen geneigt sein — auch Chauveau faßte diesen Vorgang als eine „véritable transformation du B. anthracis" auf. Bemerkenswert ist, daß der neue Stamm jeglicher Virulenz entbehrte und auch nur geringe immunisierende Kraft besaß.

Weiterhin hat Phisalix in Kollodiumsäckchen, die mit Hundeblutserum gefüllt und in die Bauchhöhle eines Hundes versenkt wurden, eine andere Variante ebenfalls aus einem nach Pasteur abgeschwächten Stamme gezüchtet; nach 20-tägigem Aufenthalt in der Bauchhöhle fanden sich nämlich in dem Säckchen nur noch Mikrokokken. Auch diese Variante — Bac. anthracis brevigemmans genannt — bewahrte ihr eigentümliches Wachstum bei Weiterzüchtung in Bouillon, entbehrte aber jeglicher Virulenz.

Man ist diesen Befunden meist mit einem gewissen Mißtrauen gegenübergetreten; so bemerken z. B. Lehmann und Neumann zu den Untersuchungen Chauveaus, „daß die Möglichkeit einer Substitution des Bac. anthracis durch eine Verunreinigung nicht ausgeschlossen erscheine, da es sich um eine ganz avirulente, nur in Flüssigkeiten konservierte, nicht auf ihr morphologisches Verhalten auf festen Nährböden geprüfte Form handelte. Immerhin verdiene die Beobachtung große Aufmerksamkeit."

Eine weitere Reihe von Untersuchungen über die Variabilität des Milzbrandbazillus setzte ein, nachdem Neisser und Massini am Bact. coli mutabile das Vorkommen von Umwandlungen mit erblichem Charakter bei Bakterien nachgewiesen hatten. Namentlich Preisz, Eisenberg und später Baerthlein haben sich mit diesem Thema beschäftigt. Preisz fand bei der Prüfung von nach Pasteur hergestellten Milzbrandimpfstoffen auf etwaige Verunreinigungen, daß auf den damit beimpften Agarplatten zahlreiche Schleimkolonien wuchsen, was er auf ein verändertes Kapselbildungsvermögen zurückführte. Eisenberg stellte fest, daß Laboratoriumskulturen des Milzbrandes meist sporogene und asporogene Rassen gemischt enthalten; auch Umwandlungen sporogener in asporogene Stämme durch Passagen über Glyzerin- oder Traubenzuckeragar wurden beobachtet. Baerthlein konnte in seinen Milzbrandaussaaten 2 Arten von Kolonien unterscheiden: große, helle, durchscheinende, zerfließende und kleinere, saftige, trübgelblich weiße Formen. Beide Arten, die sich in ihrem Wachstum in Bouillon und im Gelatinestich nicht unterschieden, zeigten auch nach Tierpassagen eine beträchtliche Konstanz; atavistische Rückschläge wurden aber festgestellt.

Andere Varianten züchtete Markoff aus normalen sowohl wie thermisch abgeschwächten Stämmen. Nach Prüfung von 53 unvorbehandelten Kulturen unterschied er 5 verschiedene Typen von Kolonien, die ihre Eigenschaften 10—30 Generationen hindurch behielten und von ihm als normale morphologische Varietäten bezeichnet werden. Ihre Unterschiede beziehen sich auf das makro- und mikroskopische Aussehen der Agaroberflächenkolonien, Trübung der Nährbouillon, Borstenbildung im Gelatinestich und das Fehlen der Fadenbildung auf gewöhnlichem Agar. Aus den abgeschwächten Stämmen ergaben sich andere Varianten, die ebenfalls nach ihren morphologischen Eigenschaften und ihrem Sporenbildungsvermögen in eine Anzahl Gruppen geordnet wurden. Alle diese Abarten will aber Markoff, ebensowenig wie die früher beschriebenen, als Mutanten im Sinne von de Vries aufgefaßt wissen; er begründet diesen seinen ablehnenden Standpunkt unter verschiedenen Gesichtspunkten, von denen mir die folgenden für die vorliegende Abhandlung belangreich erscheinen:

1) „Alle Forscher haben bei ihren Untersuchungen mit alten Laboratoriumsstämmen (meistens Gelatinekulturen) gearbeitet."

2) „Von einer direkten Mutation nach unmittelbarer Züchtung aus dem Tierkörper wird nirgends berichtet."

In der Tat scheinen Umwandlungen der erwähnten Art den Ausdruck einer Degeneration unter dem Einfluß der Fortzüchtung auf künstlichen Nährböden darzustellen; ihre praktische Bedeutung wird dadurch herabgesetzt. Chauveau hat freilich schon 1882 bei seinen ersten Untersuchungen über die Varianten abgeschwächter Milzbrandstämme einer weitergehenden Vermutung Raum gegeben: „Il ne serait pas impossible, que ces types spéciaux de Bacillus anthracis existassent dans la nature avec des propriétés absolument identiques à celles des races créées et entretenues dans le laboratoire."

Für das Vorkommen von Milzbrandvarianten unter natürlichen Bedingungen ist in neuerer Zeit aber meines Wissens nur eine einzige Beobachtung beigebracht worden: M. Müller züchtete nämlich 1912 direkt aus dem auf Gipsstäbchen eingesandten Blut einer notgeschlachteten Kuh einen asporogenen Stamm, der sich im übrigen durchaus regelrecht verhielt, auch im Tierversuch virulent war. Letztere Eigenschaft ging ihm im Verlaufe von 5 Monaten verloren. Einen weiteren Beitrag zu der Frage des Vorkommens von Milzbrandvarianten bei Erstzüchtung aus tierischem oder menschlichem Körper kann ich in der nachstehenden Beobachtung liefern, die ich im Januar 1913 am Kieler Untersuchungsamte zu machen Gelegenheit hatte. Wie ich vorausschicken möchte, bezog sich die Abweichung des betreffenden Stammes auf sein morphologisches Verhalten. Daß gleichzeitig auch völlig typische Kolonien gefunden wurden, ist zwar kein Beweis für die im Körper erfolgte Abspaltung der Variante vom normalen Typ, spricht aber doch für die Möglichkeit eines derartigen Vorganges. Die Vorgeschichte dieses Falles ist folgende:

Ein in Kellinghusen ansässiger Gerber J. erkrankt im Januar 1913 mit Schmerzen in der Schultergegend, wo sich eine kleine, rote Stelle zeigt, sowie Uebelkeit und Hitze. Der am nächsten Morgen zugezogene Arzt, Dr. Jess, dem ich für Mitteilung dieser Einzelheiten zu Dank verpflichtet bin, findet eine derbe Infiltration auf der rechten Schulterwölbung mit lebhafter Rötung und Druckschmerzhaftigkeit. Nach Angabe seiner Frau hat er auf dieser Schulter stets die zum Gerben bestimmten Felle getragen, was zu einer in gesunden Tagen bemerkbaren Schwielenbildung führte. Auf dem höchsten Punkt der Schulter fand sich eine anfangs hanfkorn-, später haselnußgroße Wasserblase mit gelblichem Inhalt; ihre Umgebung war phlegmonös gerötet und geschwollen. Kein Karbunkel! Die Schwellung schritt in 24 Std. schnell vorwärts am Halse und Nacken bis zum Ohr, am Rücken und an der linken Seite bis zum Rippenbogen, am Arm bis zum Ellenbogen. Die Schwellung war teigig, stark gerötet, nach den Rändern hin abfallend, wallartig gegen die gesunde Umgebung abgesetzt. Sehr schlechtes Allgemeinbefinden. Tod am nächsten Tage. Klinisch wurde die Krankheit als eine besonders schnell verlaufende Milzbrandseptikämie aufgefaßt.

Zur Sicherung dieser Diagnose wurden dem Untersuchungsamt in Kiel übersandt: 1) eine Blutprobe aus der Vena cubitalis, 2) ein exzidiertes Hautstückchen von der Schulter — beides kurz nach dem Tode entnommen.

Die von mir vorgenommene Untersuchung der Blutprobe im direkten Ausstrich mit anschließender Gram-Färbung[1]) zeigte einzelne Stäbchen, die nach Form, Größe und Färbung als Milzbrandbazillen angesprochen werden mußten. Es überwogen aber S-förmige und hakenartig gekrümmte Formen, die oft an den Enden kolbige, ja kugelförmige Anschwellungen zeigten (vgl. Taf. I, Fig. 1—9). Ferner waren Gebilde vorhanden, die den Eindruck von Sproßzellen machten (Fig. 5 u. 10), so daß in den Eintragungen ins Tagebuch ein gleichzeitiger Befund von Soor in Erwägung gezogen wurde.

Im entsprechenden Ausstrich aus dem Hautstück fanden sich die gleichen Bilder, außerdem aber noch viel wunderlichere Formen: dicke, plumpe Stäbe, an einem Ende meist kugelig aufgetrieben, oft zu langen Fäden auswachsend, die an Größe die in den Blutausstrichen gefundenen Elemente erheblich übertrafen (Fig. 12—15).

Zur Bewertung dieser Befunde ist zunächst festzustellen, daß auf den später zu besprechenden Kulturplatten — von einigen wenigen Kokkenkolonien abgesehen — nur Milzbrandkeime wuchsen. Damit wurde der Verdacht auf gleichzeitiges Vorhandensein von Soor hinfällig. Da ferner die ebenfalls angelegten anaëroben Kulturen kein Wachstum zeigten, waren auch andere vielleicht in Frage kommende grampositive Bazillen, wie die des Rauschbrands oder des malignen Oedems, außer Betracht zu lassen. Die entfernte Möglichkeit, daß es sich um irgendwelche schwer kultivierbare Fäulnis- oder sogenannte „Kadaver“bazillen handeln könne, besteht kaum, da das Material bald nach dem Tode entnommen und nur kurze Zeit unterwegs gewesen war. Ich bin daher der Ueberzeugung — unter Berufung auf das noch mitzuteilende Kulturergebnis —, daß es sich hier um Involutions- oder vielleicht besser — um nicht von vornherein ein degeneratives Moment anzunehmen — gesagt: teratologische Formen des Bac. anthracis handelt. Die Neigung des Milzbrandkeimes, in ungünstigen Nährböden oder gegen Ende des Wachstums unregelmäßige, klumpige, auch kugelige Formen zu bilden, ist altbekannt (vgl. z. B. Kruse in Flügges Mikroorganismen). Ungünstige Nährbodenverhältnisse aber in diesem Falle anzunehmen, liegt keine Veranlassung vor; im Gegenteil, der überaus schnelle Verlauf der Erkrankung spricht für schnelle und hemmungslose Vermehrung der Keime. Da ich in Ausstrichen aus Milzbrandkarbunkeln niemals etwas ähnliches bemerkt habe, erscheint mir es auch wenig wahrscheinlich, daß die Wachstumsenergie der Bazillen in diesem Falle rascher allgemeiner Verbreitung sich schneller erschöpft haben sollte, als bei längerem Wuchern an einem eng umschriebenen Herd. Andererseits fiel mir namentlich in den Blutausstrichen auf, daß in der Nähe der beschriebenen Gebilde besonders viel Leukozyten — oft in deutlichem Kernzerfall begriffen — angehäuft waren, und daß ferner nicht selten die kugeligen oder stark gekrümmten Elemente der Phagozytose anheimgefallen waren (vgl. Taf. I, Fig. 11). Nach meinen Erfahrungen ist die letztgenannte Erscheinung in Ausstrichen von an Milzbrand erkrankten Menschen nicht häufig; das erscheint erklärlich, da bekanntlich „Körperbazillen“, im Gegensatz zu „Kulturbazillen“, gegen die Phagozytose geschützt sind. Andererseits aber wissen wir — u. a. aus den Untersuchungen von Bail —, daß die Leukozyten gegen die Anthraxbazillen, auch im bekapselten Zustande, stark bakterizid wirken. Diese „aphagozide Leukozytenwirkung“, der in empfänglichen Tieren — Maus, Meerschwein, Kaninchen — die Aggressine der Bazillen entgegenwirken, mag vielleicht hier — beim weniger empfänglichen Menschen — den Anstoß zum Auftreten der beobachteten Gebilde gegeben haben; die als Anlaß zur Bildung von Involutionsformen geltenden ungünstigen Nährbodenverhältnisse könnten in diesem Sinne auch im lebenden Organismus eintreten. Daß der Milzbrandbazillus dann, wenn ihm im Tierkörper erschwerte Existenzmöglichkeiten geboten werden, zu ungewöhnlichem Wachstum neigt, machen die eingangs erwähnten Meerschweinchenimpfungen Chauveaus und Phisalix' mit einem nur für Mäuse pathogenen Stamm wahrscheinlich: der von ihnen beschriebene Bac. anthracis „claviformis“ ist mit den hier abgebildeten nagelartigen Formen vergleichbar, und den von mir gefundenen hefeartigen Gebilden können vielleicht die in der Bauchhöhle des Hundes gezüchteten, von Phisalix als Mikrokokken bezeichneten Varianten an die Seite gestellt werden. Die weitgehenden Formveränderungen, die der Milzbrandbazillus in faulenden Kadavern oft schon nach 2mal 24 Std. erleidet (Olt), können zur Erklärung des vorliegenden Befundes nicht herangezogen werden, da einmal, wie schon betont, die Proben baldigst entnommen und nach einer die erwähnte Zeit bei weitem nicht erreichenden Frist untersucht wurden und andererseits der körnige Zerfall, der die Folge der Einwirkung der Fäulnisprodukte ist (K. Stein), in meinen Ausstrichen nicht beobachtet wurde.

---

[1]) Wäre die Bedeutung des nachstehend beschriebenen Befundes von vornherein richtig eingeschätzt worden, so wäre natürlich eine Kapselfärbung von besonderem Wert für die Diagnosestellung gewesen. Leider war später keine Möglichkeit vorhanden, diese Unterlassung wieder gut zu machen, so daß die Frage, ob die gefundenen Formen eine Kapsel zeigen, offen bleiben muß.

Da es mir später nicht gelungen ist, aus den in diesem Falle gezüchteten Stämmen, trotz verschiedener Versuche, z. B. durch Kultur in menschlichem Serum oder Leichenblut die gleichen Formen künstlich herauszuzüchten, so ist der Zusammenhang der Milzbranderkrankung, die als solche durch die Kultur sichergestellt wurde, mit den in den Ausstrichen gefundenen Gebilden freilich nicht über jeden Zweifel sichergestellt; er wird aber sehr wahrscheinlich dadurch, daß der später zu beschreibende atypische Stamm aus Stäbchen zusammengesetzt war, die durchweg eine Neigung zu hakenförmiger Krümmung, mithin zur Bildung ähnlicher, wenn auch nicht gleich weitgehend, ungewöhnlicher Formen zeigten.

Teratologische Formen des Bac. anthracis sind unter „natürlichen Bedingungen", d. h. nach meiner Auffassung: im für Milzbrand empfänglichen, nicht auf künstlichem Wege infizierten, milzbrandkranken, menschlichen oder tierischen Körper meines Wissens bisher kaum gefunden worden.

So sind die Spirulinen Petruschkys bei künstlicher Impfung von Fröschen, also für den Milzbrand normalerweise unempfänglichen Lebewesen, mithin unter nach obiger Definition ganz unnatürlichen Verhältnissen beobachtet worden. Bei an chronischem Milzbrand erkrankten Ratten hat Zwick Bazillen gesehen, die gebogen, geknickt, zu dicken Stäbchen aufgequollen oder an den Enden keulenförmig verdickt waren. Trotz der Uebereinstimmung dieser Merkmale mit meinem Befunde ist es doch kaum angängig, diese Beobachtung mit der meinigen in Beziehung zu bringen. Das Wesen des chronischen Milzbrandes ist noch nicht genügend geklärt; die bei ihm maßgebenden Einflüsse können nicht ohne weiteres als bei dem vorliegenden Fall akuter Milzbrandseptikämie vorhanden angenommen werden. Zwar in künstlichen Kulturen, aber doch unter Umständen, bei denen eine vorherige Beeinflussung der Keime durch im tierischen Körper wirksame Kräfte in Erwägung gezogen werden muß, fanden Lignières und Durrien Aehnliches: sie züchteten aus dem Blute eines einen Monat zuvor mit Pasteurschem Impfstoff geimpften, an Milzbrand gefallenen Bullen Anthraxbazillen, die von der 3.—6. Generation ab zum Teil hakenförmig gekrümmte und spiralig gedrehte Fäden, sowie kolben-, nagel-, flaschen-, birnen- usw. förmige Gebilde in künstlichen Kulturen zeigten; diese bildeten keine Sporen, waren aber von der üblichen Virulenz. Nach Tierpassage entwickelten sich wieder die beschriebenen ungewöhnlichen Formen, während im Blute selbst nur regelrecht gestaltete Bazillen zu sehen waren.

Läge hier wirklich eine Reaktion auf dem Tierkörper entstammende Einflüsse vor, so hätte man letztere wohl darin zu suchen, daß das Tier kurz zuvor gegen Milzbrand geimpft worden war; daß sie sich allerdings erst in bei späteren Kulturübertragungen sichtbarlich äußerten, ist auffällig und läßt eine Fehlbeobachtung nicht als ausgeschlossen erscheinen.

In älteren Kulturen von Laboratoriumsstämmen sind dagegen Gebilde, die vom Typus des Milzbrandstäbchens erheblich abweichen, öfters beobachtet worden.

So beschreibt Preisz die Bazillen der von ihm eingehend untersuchten, in älteren Milzbrandkulturen fast regelmäßig vorkommenden „knopf"artigen Sekundärkolonien folgendermaßen: „sie sind gekennzeichnet durch weitgehenden Polymorphismus, durch Mannigfaltigkeit ihrer Größe . . .", sie sind „wellig geschlängelt", sie „verdicken sich an einem Ende zu einer sekundären Kugel". Weiter schildert Eisenberg als Eigentümlichkeit der von ihm durch Umwandlung erzielten asporogenen Rassen: „beim Altern der Kulturen eigentümliche Involutionsformen zu geben, die an Hefezellen, Spindeln, Keulen oder Tennisschläger erinnern, wie man sie kaum in normalen Kulturen, öfters aber als Heteromorphosen in Lithiumchloridagarkulturen beobachtet."

Häufig dürfte das Vorkommen der teratologischen Formen des Bac. anthracis unter natürlichen Verhältnissen nicht sein. Denn bei 38 bakteriologisch sichergestellten Fällen menschlichen Milzbrandes, die ich am Kieler Untersuchungsamt 1911/14 zu untersuchen Gelegenheit hatte, habe ich nur dieses einzige Mal diese Beobachtung gemacht. Als ein die Bildung solcher atypischer Formen auslösendes Moment kommt möglicherweise ein von den Abwehrkräften des Erkrankten ausgehender Reiz in Frage — ein Umstand, der vielleicht auch für die im gleichen Falle beobachteten nunmehr zu betrachtenden atypischen Kulturformen verantwortlich war.

Die mit der Blutprobe beschickte Nähragarplatte — das großenteils flüssige Blut wurde mittels Glasspatel verrieben — zeigte nach 18-stünd. Bebrütung bei 37° reichliches Wachstum: abgesehen von einigen wenigen, leicht erkennbaren Kokkenkolonien zahlreiche typische Milzbrandansiedlungen und zwischen ihnen verstreut etwa ebensoviele, dem Umfang nach etwas kleinere, andererseits aber in der Höhe stärker entwickelte, daher in der Durchsicht trübere, trockene, grau-weiße Kolonien, die makroskopisch und auch bei schwacher Vergrößerung vom Typus der Milzbrandoberflächenkolonie erheblich abwichen. Die mikroskopische Untersuchung ihrer Oberflächen- und Randpartien mit 10-, 25- und 50-facher Vergrößerung ergab, daß sie nur wenig aufgefasert waren, daß insbesondere einzelne herauswachsende Fäden fehlten. Wollte man sie den Milzbrandkolonien gegenüberstellen und dabei im Rahmen des bekannten Bildes vom „gelockten Frauenhaar“ bleiben, so hätte man den ringellockigen Krauskopf eines Kindes zum Vergleich heranziehen können. Eine photographische Wiedergabe der so erhaltenen Bilder geben die Figuren der beigegebenen Taf. II:

Fig. 20 zeigt einen Ausschnitt aus der Mitte der Agarplatte bei 10-facher Vergrößerung in stark schräg durchfallendem Licht. Die Unterschiede in der Oberflächengestaltung beider Kolonieformen — der typischen und der hier in Rede stehenden atypischen — treten bei dieser, an ein Dunkelfeld erinnernden, im Gegensatz zu der üblichen Betrachtung im gerade durchfallenden Licht die Oberflächen der Ansiedlungen ein wenig erhellenden Beleuchtungsart besonders deutlich hervor. Fig. 21 gibt zwei der beschriebenen atypischen Ansiedlungen bei 25-facher Vergrößerung in der üblichen geraden Durchsicht wieder, die der einen der letztgenannten ziemlich nahe liegende, glattrandige Kolonie ist eine der oben erwähnten Kokkenansiedlungen. Fig. 22 endlich zeigt die beiden dicht aneinander geschmiegten Kolonien, die das Uebersichtsbild 1 in der rechten unteren Ecke bringt, in 50-facher Vergrößerung ebenfalls in gerade durchfallendem Licht.

Hervorzuheben ist, daß die hier interessierenden Kolonien zwar gelegentlich den typischen Milzbrandansiedlungen eng anlagen, wie die Betrachtung des rechten oberen Teiles der Fig. 1 und im einzelnen auch Fig. 3 zeigt, daß aber auch gut isolierte Einzelansiedlungen beider Kolonieformen vorhanden waren, wie die mittleren Teile der Fig. 1 und die Fig. 2 und 3 dartun. Eine gegenseitige Beeinflussung — etwa im Sinne der knopfartigen Bildung von Sekundärkolonien, die, wie erwähnt, den Milzbrandkulturen — wenigstens wenn sie einige Tage alt sind, eigen ist, kommt also nicht in Frage; auch würde, falls man zu der Annahme geneigt wäre, daß die eine Form durch plötzliche Umwandlung aus der anderen entstanden sei, der Schauplatz dieses Geschehens nicht auf die Kulturplatte zu verlegen sein; vielmehr müßte diese Abspaltung sich bereits in dem zur Untersuchung gebrachten Material — ob intra vitam oder post mortem, wäre eine weitere Frage — vor sich gegangen sein.

Jedenfalls war das Aussehen dieser Kolonien von dem Milzbrandtypus so abweichend, daß es fraglich erscheinen muß, ob bei einer lediglich auf die klinisch-bakteriologische Diagnose abzielenden Untersuchung neben den in dieser Richtung auf den ersten Blick den Weg weisenden typischen Milzbrandkolonien eine nähere Betrachtung dieser „unverdächtigen" Formen überhaupt stattgefunden haben würde, wenn nicht der oben beschriebene Befund in den direkten Ausstrichpräparaten Veranlassung gegeben hätte, nach Kolonien zu suchen, die den dort gefundenen gekrümmten, kolbigen, sproßzellenartigen usw. Formen entsprochen hätten.

Die mikroskopische Untersuchung der diesen atypischen Kolonien angehörenden Keime im Ausstrich zeigte, daß es sich um grampositive Stäbchen handelte, die von den typischen Formen in den regelrechten Milzbrandkolonien sich dadurch unterschieden, daß sie im allgemeinen kürzer waren und meist etwas gekrümmt — man hätte sie mit großen plumpen Vibrionen vergleichen können —. Im hängenden Tropfen fehlte jede Beweglichkeit.

Die weitere Untersuchung der so gewonnenen beiden Arten von Stämmen, die mit A — von einer regelrechten Milzbrandkolonie stammend — und B — von der atypischen oder besser gesagt: zweifelhaften Kolonieform herrührend — bezeichnet wurden, ergab im Tierversuch ihre übereinstimmende Virulenz gegen weiße Mäuse: zwei mit A unter die Haut geimpfte Tiere starben nach 72 und 80, zwei mit B geimpfte in etwa 13 Std. Der Obduktionsbefund war in allen Fällen der gleiche, für Milzbrand sprechende; Kapselbildung wurde festgestellt. Gewebsausstriche der mit B infizierten Tiere zeigten ebenfalls die Neigung dieses Stammes, gekrümmte, hakenförmige und etwas plumpere Stäbchen zu bilden, im Gegensatz zu den schlankeren, völlig geraden Formen des Stammes A, als eines typischen Vertreters seiner Art. Indessen war das Bild, das die Ausstriche aus den mit B geimpften Tieren boten, doch an Absonderlichkeit längst nicht mit den Erstausstrichen aus dem Blut und dem Gewebe des an diesen Stämmen verstorbenen Mannes zu vergleichen; die hier beobachteten wunderbaren Gebilde wurden, nicht zum mindesten nicht im gleichen Extrem, wieder gefunden. Die aus den B-Tieren herausgezüchteten Kolonien entsprachen ihrer oben in Wort und Bild beschriebenen Urform — wenigstens insoweit, als sie von einer typischen Milzbrandansiedlung durch geschlosseneres Wachstum und eine unregelmäßige Anordnung der die Kolonie bildenden Scheinfäden, die statt der schön geschwungenen Bogen des regelrechten Wachstums vielfache Knickungen und Winkel zeigten. Im ganzen aber war die Gestalt dieser Kolonie doch nicht mehr so stark vom Normalen abweichend, wie die erstgezüchteten Kolonien; die Tendenz, zur Norm zurückzukehren, war unverkennbar. Zahlreiche weitere Passagen von Agar zu Agar bestätigten diesen Eindruck. Nach mehreren Jahren war eine Unterscheidung der beiden Stämme nach der Gestaltung ausgewachsener Kolonien nicht immer mehr mit Sicherheit möglich; in Klatschpräparaten ganz junger — etwa 12 Std. bei Zimmertemperatur auf Gelatine gewachsener Kolonien allerdings machte sich die Neigung des B-Stammes, krumme Stäbchen und wohl infolgedessen auch geknickte Scheinfäden zu bilden, immer noch deutlich bemerkbar; das zeigen die Fig. 23 und 24 auf Taf. II: Stamm A und B im mit Fuchsin gefärbten Klatschpräparat von Ansiedlungen der eben beschriebenen Art bei 500-facher Vergrößerung. Heute — nach etwa 7-jähriger Fortzüchtung ist

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

auch dieser Unterschied fast völlig geschwunden. Es kann demnach keinem Zweifel unterliegen, daß die erstgezüchteten atypischen Kolonien, ebenso wie die typischen, dem Bac. anthracis zuzurechnen waren. Auch anfänglich, als der morphologische Unterschied in der Gestaltung des einzelnen Stäbchens und der Kolonien noch ausgesprochen war, habe ich in dieser Hinsicht keinen Zweifel gehabt, da die sonstigen Merkmale keine wesentlichen Unterschiede aufwiesen, oder doch nur solche, die ebenfalls wieder auf dem veränderten Wachstum beruhten. So unterschieden sich damals die beiden Stämme A und B in mehrfach wiederholtem Versuch im Gelatinestich, namentlich dann, wenn eine gegenüber dem üblichen verdünnte, etwa 5-proz. Gelatine benutzt wurde: Stamm A wuchs dann in feinen, zarten, langen Fäden, B dagegen in kurzen, dicken Stummeln aus dem zentralen Stich heraus. Fig. 17 auf Taf. II gibt in natürlicher Größe dieses Verhalten wieder. Um mir einen Einblick in das Wesen dieses Wachstumsunterschiedes zu verschaffen, habe ich diese Gelatinestichkulturen wie ein Gewebsstück behandelt, d. h. in Formalin fixiert, mit Alkohol gehärtet, in Paraffin eingebettet und im gefärbten Schnittpräparat untersucht. Wie die Fig. 18 und 19 (Taf. I) zeigen, ergibt sich so ein anschauliches Bild von dem grundverschiedenen Aufbau der von den beiden Stämmen gebildeten Seitenäste; während A als regelrechter Milzbrandstamm in der nur geringen Widerstand bietenden dünnen Gelatine den Scheinfaden in völlig gerader Richtung vortreibt mit dem Bestreben, stets in der gleichen Ebene zu verharren — in den etwa 10 μ dünnen Schnitten ließen sich die Fäden oft über $1/2$ mm (bei schwacher Vergrößerung) im gleichen Gesichtsfeld verfolgen —, ist bei B die das Wachstum des Seitenastes ein im Verhältnis dazu ungeordnetes: An Stelle des einen Scheinfadens eine zu einem dicken Strang, der weit mehr als den hier wiedergegebenen Teil des Gesichtsfeldes der starken Vergrößerung einnahm, verflochtene, regellos ineinander verfilzte Masse. Einen Vergleich der Morphologie des einzelnen Stäbchens an Hand dieser Präparate möchte ich nicht für angezeigt halten, da möglicherweise die mit der Vorbehandlung verknüpften Schrumpfungen Fehlbeobachtungen veranlassen könnten, z. B. scheint es mir wahrscheinlich, daß die Windungen des Scheinfadens bei A auf diese Einflüsse zurückzuführen sind; denn unvorbehandelte Scheinfäden, z. B. aus Bouillon im hängenden Tropfen beobachtet, zeigen diese Schlängelung nicht. Für den Aufbau der Seitenäste im ganzen aber glaube ich aus diesen Untersuchungen schließen zu dürfen, daß die dem Stamme B eigentümliche im Vergleich zum typischen Milzbrand ungeordnete Wachstumsart auch in dem geschilderten unterschiedlichen Ausfall der Gelatinestichkultur zum Ausdruck kommt.

Im übrigen aber ergaben meine vergleichenden Untersuchungen eine weitgehende Uebereinstimmung beider Stämme. Ich konnte keine Unterschiede feststellen in der Virulenz gegen Meerschweinchen; die beiden erlagen; die Resistenz ihrer Sporen gegen strömenden Dampf war mit 5—7 Min. die gleiche und in ihren fermentativen Fähigkeiten, die ich im Rahmen einer größeren, in anderem Zusammenhang zu besprechenden Versuchsreihe prüfte, stimmten sie im allgemeinen gut überein. Allerdings schien mir bei der Untersuchung auf Peptonisierung der Milch, die sich auf Milchagarplatten durch Auftreten einer Aufhellungszone um die Kolonien herum äußert, der Stamm B hinter A erheblich zurückzubleiben: Die Fig. 16 zeigt den Unterschied in der Breite der Aufhellungszone längs der Strichkulturen beider Stämme. Im Milchröhrchen aber war die Aufhellung bei beiden Stämmen gleich stark. Es wäre demnach kaum richtig, einen Unterschied in der Stärke des peptonisierenden Fermentes anzunehmen. Vielmehr dürfte die verschiedene Breite der Aufhellungszonen um die Oberflächenstrichkulturen herum eine Folge des mehr ins Flächenhafte gehenden Wachstums bei A und des geschlosseneren, mehr in die Höhe strebenden bei B sein. Die bei durchfallendem Lichte aufgenommene Fig. 16 zeigt diesen Wachstumsunterschied, der sich auch in der geringeren Durchsichtigkeit der dickeren, aber schmäleren B-Strichkultur äußert. Daß die größere Ausbreitung auf der Platte günstigere Bedingungen für die Diffusion des Fermentes in den umgebenden Nährboden schafft und somit eine breitere Aufhellungszone zur Folge hat, ist verständlich, und so glaube ich, in diesem abweichenden Verhalten des Stammes B nur eine Folgerung aus seinem atypischen morphologischen Verhalten sehen zu sollen. Dieses ist also das einzige von mir gefundene Stammesmerkmal dieser Variante.

Ueberblickt man die gesamte Ausbeute des Falles, so erscheint folgendes von allgemeiner Bedeutung:

1) *teratologische Formen des Bac. anthracis wurden im menschlichen Blute, also unter natürlichen Bedingungen, gefunden.*

2) *Die Erstzüchtung aus menschlichem Leichenblute ergab neben regelrechten Milzbrandstämmen eine Variante, deren Abweichung lediglich morphologischer Art ist; sie zeigt sich in der Neigung der einzelnen Stäbchen zu gekrümmter Form und demzufolge in regellosem Durcheinanderwachsen der von ihnen gebildeten Scheinfäden zu atypischer Gestalt der Kolonien. Das abweichende Verhalten ist im Verlaufe mehrerer Jahre allmählich geschwunden.*

Hinsichtlich der Ursache für dieses abweichende Verhalten ist man auf Vermutungen angewiesen. Zunächst war daran zu denken, daß einzelne Stäbchen beim Verreiben der Blutprobe auf der Agarplatte mehr in die Tiefe des Nährbodens gedrückt worden seien als andere, die auf der Oberfläche liegen blieben; Tiefenkolonien zeigen geschlosseneres Wachstum (vgl. *Flügges* Mikroorganismen. 2. Aufl. Bd. 2. Fig. 62. S. 220) als oberflächliche, und haben die Neigung, sich nach allen Seiten, also auch im vertikalen Durchmesser, zu entwickeln. Dagegen spricht aber, daß die dann anzunehmenden Verletzungen der Agaroberfläche auf den Photogrammen 1, 2, 3 (Taf. II) nicht in Erscheinung treten, und daß das atypische Verhalten auch bei wiederholten Fortzüchtungen und nach Tierpassage — wenn auch in allmählich abgeschwächtem Grade — gefunden wurde. Aus letzterem Grunde können auch etwaige auf ungleichmäßiges Trocknen der Agarplatte zurückzuführende, örtliche Wachstumserschwerungen als Ursache nicht in Frage kommen: Eine durch Einflüsse des ersten ihm gebotenen künstlichen Nährbodens bedingte Standortsmodifikation ist der Stamm B also wohl kaum. Vielmehr ist anzunehmen, daß der Augenblick der Abspaltung weiter zurückliegt. Sie kann im Körper des der Milzbranderkrankung Erlegenen erfolgt sein, dann würde der geschilderte Befund von teratologischen Formen, die — wie bereits gesagt — da vielfach beim Vorliegen ungünstiger Wachstumsbedingungen beobachtet, als Ausdruck der Abwehrmaßnahmen des menschlichen Körpers aufzufassen sind, erhöhte Bedeutung gewinnen.

insofern weiter anzunehmen wäre, daß der in ihnen ausgesprochene Kampf ums Dasein einzelnen Bazillen für eine Reihe von Generationen einen veränderten Charakter gegeben hat. Es läge dann eine im menschlichen Körper erfolgte Umbildung mit zwar nicht unveränderlicher, aber doch ausgesprochen erblicher Fixation der neugewonnenen Eigenschaften vor, die mit Pringsheim als Adaption oder Akkommodation bezeichnet werden könnte. Daß sich die Umbildung nur auf morphologische Merkmale erstreckte, während andere, sonst als wesentlich angesehenen Eigenschaften, wie z. B. die Virulenz, anscheinend unberührt blieben, charakterisiert die Wandlung, ebenso wie die mangelnde Beständigkeit, als nicht sehr tiefgreifend.

Daß außer den atypischen auch typische Stämme in etwa gleichem Zahlenverhältnis gezüchtet wurden, kann das Ergebnis einer im Körper erfolgten Umwandlung sein; zwingend ist diese Annahme aber nicht, denn ebensosehr ist mit der Möglichkeit einer Mischinfektion durch regelrechte sowohl wie auch durch bereits veränderte Keime zu rechnen; zur Milzbranderkrankung des Meerschweinchens gehören, wie Versuche Bertarellis und Bocchias ergeben haben, stets eine Mehrzahl von Keimen. Für den minder empfindlichen Menschen dürfte das Gleiche gelten. Im vorliegenden Falle könnte man sogar aus dem raschen und schweren Verlauf der Krankheit schließen, daß eine große Zahl von Sporen zur Auskeimung und Vermehrung gelangte. Die den Ausgangspunkt der Ansteckung bildenden Häute und Felle müßten also eine größere Anzahl Sporen beherbergt haben, die aber nicht einheitlicher Art, sondern zum Teil mit veränderten Erbanlagen ausgestattet waren, und von denen mindestens je eine in dem Erkrankten zur Keimung und Vermehrung gelangte. Die Abspaltung der Variante wäre dann weiter zurückzuverlegen; sie könnte durch die den Fellen zuteil gewordene Vorbehandlung bedingt sein; wobei daran zu erinnern ist, daß die eingangs erwähnten Varianten vielfach thermisch geschwächte Stämme betrafen. Die teratologischen Formen im Leichenblute könnten im Sinne dieser Deutung die Abkömmlinge der vor der Infektion bereits veränderten Sporen darstellen.

Welcher dieser beiden Erklärungsversuche den Vorzug verdient, bleibe dahingestellt. Jedenfalls ist nicht als bewiesen anzusehen, daß die geschilderte Variante unter natürlichen Bedingungen entstanden ist; wohl aber wurde sie bei Erstzüchtung aus dem menschlichen Körper gewonnen, und das unterscheidet sie wesentlich von ähnlichen Befunden bei alten Laboratoriumskulturen.

Wollte man nach Analogien in anderen Formenkreisen der Bakteriologie suchen, so wäre vielleicht an die sogenannten Q-Formen in der Typhus-Coli-Gruppe zu denken; auch sie, deren Eigentümlichkeit in einer abweichenden Beschaffenheit der Leibessubstanz der einzelnen Stäbchen, und einem dadurch bedingten verklumpten Wachstum in flüssigen Nährböden oder der „Spontanagglutination" beim Abschwemmen von festen Nährböden besteht, wurden durch von Lingelsheim zunächst in älteren Laboratoriumskulturen gesehen; in neuerer Zeit sind sie auch bei Erstzüchtung aus dem menschlichen Körper (Gildemeister, G. Wagner) gefunden worden. Da sie ferner aus mit regelrechten Stämmen infizierten Versuchstieren gezüchtet wurden (G. Wagner und E. Emmerich), darf bei ihnen auf die Möglichkeit einer Abspaltung im lebenden Organismus mit mehr Berechtigung geschlossen werden.

Erklärung der Abbildungen.

Tafel I.

Fig. 1—15. Teratologische Formen des **Bac. anthracis** im Ausstrich von Leichenblut und Gewebsflüssigkeit. Färbung nach **Gram**. Vergr. 1:1000.
„ 16. Milchagarplatte mit Aufhellungszonen um die Strichkulturen des regelrechten Milzbrandstammes A und der Variante B. Natürl. Gr.
„ 17. Gelatinestichkulturen des regelrechten Stammes A und der Variante B. Natürl. Gr.
„ 18. Schnittpräparat eines Seitenastes der Gelatinestichkultur des regelrechten Stammes A. Färbung nach **Gram**. Vergr. 1:800.
„ 19. Schnittpräparat eines Seitenastes der Gelatinestichkultur der Variante B. Färbung nach **Gram**. Vergr. 1:800.

Tafel II.

Fig. 20. Kolonien des regelrechten Stammes A und der Variante B bei Erstzüchtung aus dem Leichenblute. Oberflächenaussaat auf Nähragar. Stark schräg durchfallendes Licht. Vergr. 1:10.
„ 21. Zwei Kolonien der Variante B von der gleichen Agarplatte (vgl. Fig. 20 links unten) im gerade durchfallenden Licht. Vergr. 1:25.
„ 22. Zwei dicht nebeneinander liegende Kolonien der Variante B von der gleichen Agarplatte (vgl. Fig. 20 rechts unten) im gerade durchfallenden Licht. Vergr. 1:50.
„ 23. Klatschpräparat einer jungen Kolonie auf Nährgelatine des regelrechten Stammes A. Vergr. 1:500.
„ 24. Klatschpräparat einer jungen Kolonie auf Nährgelatine der Variante B nach mehrjähriger Fortzüchtung. Fuchsinfärbung. Vergr. 1:500.

Literatur.

Baerthlein, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 54. Beitr. S. 182. — **Bail**, O., i. Handb. d. Serumtherap. herausg. v. Klimmer u. Wolff-Eisner. Leipzig 1911. — **Bertarelli**, E., u. **Bocchia**, J., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 76. S. 184. — **Chauveau**, Compt. rend. de l'Acad. d. sc. Paris. T. 109. p. 554. — **Chauveau** u. **Phisalix**, ibid. T. 120. p. 801. — **Eisenberg**, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 63. S. 305 u. Bd. 73. S. 87. — **Gildemeister**, Centralbl. f. Bakt. Bd. 78. S. 129. u. Bd. 79 S. 49. — **Kruse** bei **Flügge**, C., Die Mikroorganismen. 2. Aufl. Bd. 2. 1896. S. 219. — **Lehmann**, E., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 77. S. 289. — **Lehmann** u. **Neumann**, Atlas u. Grundr. d. Bakteriologie. 5. Aufl. 1912. S. 442. — **Lignières** u. **Durrien**, Réc. de méd. vétér. 1902. v. 28. Febr.; zit. nach **Baumgartens** Jahresber. Bd. 19. S. 140. — **Markoff**, Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haust. Bd. 12. S. 137. — **Massini**, Arch. f. Hyg. Bd. 61. — **Müller**, M., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 66. S. 501. — **Neisser**, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 38. Beih. S. 98. — **Olt**, Deutsch. tierärztl. Wochenschr. Bd. 7. 1899. S. 1. — **Petruschky**, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 7. S. 15. — **Phisalix**, Compt. rend. de l'Acad. d. sc. Paris. T. 131. p. 424. — **Preisz**, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 35. S. 280 u. Bd. 58. S. 510. — **Pringsheim**, Die Variabilität nied. Organism. Berlin 1910. S. 8. — **Stein**, K., Arch. f. wiss. u. prakt. Tierheilk. Bd. 36. 1910. S. 634. — **Wagner**, G., Zeitschr. f. Hyg. Bd. 90. S. 41. — **Wagner**, G., u. **Emmerich**, E., Med. Klin. 1916. No. 33. — **Zwick**, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 57. S. 272.

Nachdruck verboten.

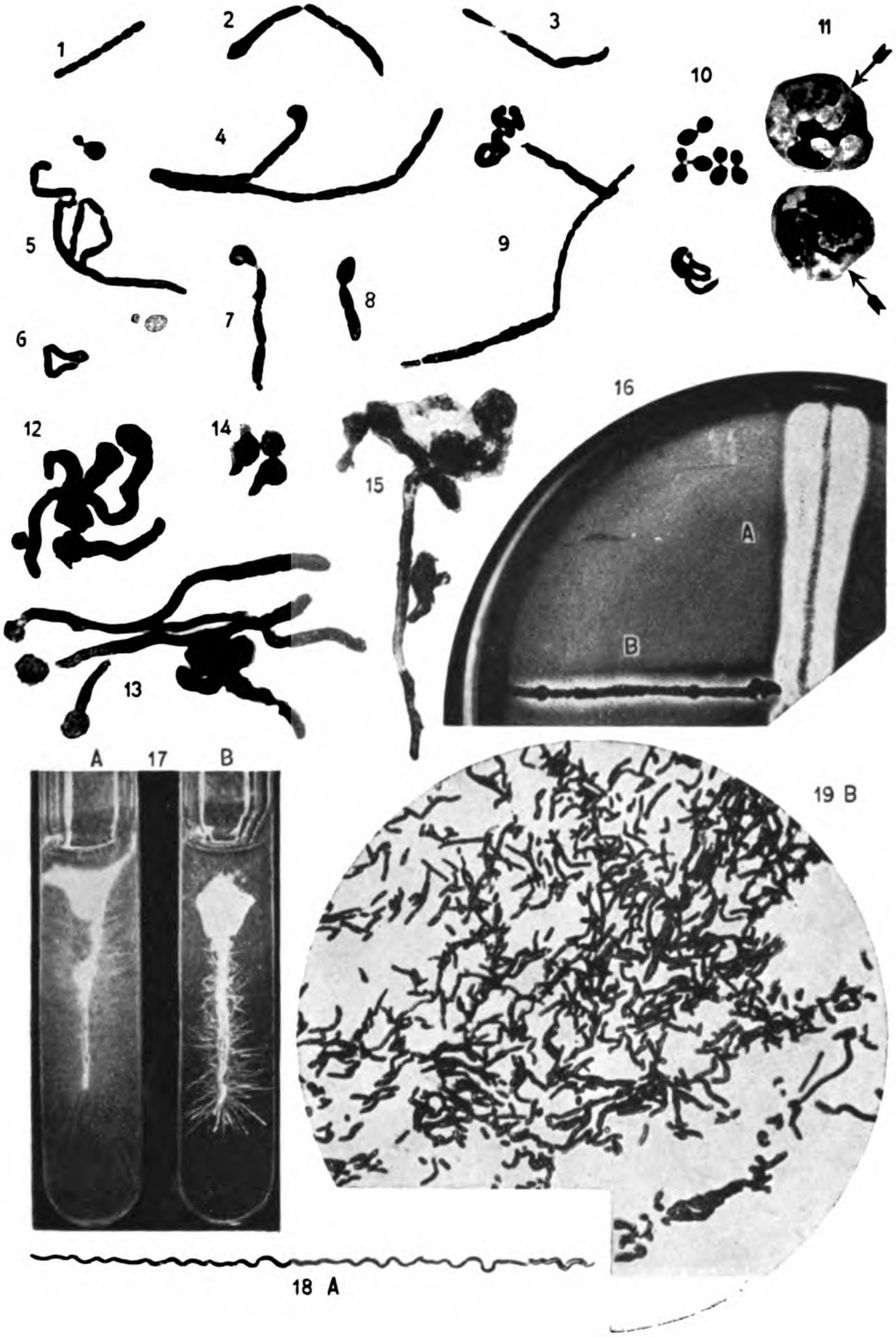
Zur Frage der Wirksamkeit von normalem Serum bei der Milzbrandinfektion.

[Aus der staatlichen Tierimpfstoffgewinnungsanstalt in Mödling bei Wien.]

Von Direktorstellvertreter Dr. **Franz Gerlach**.

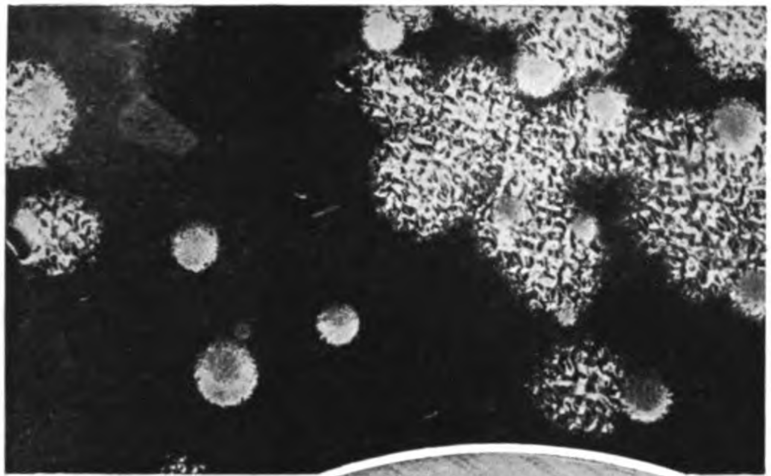
Kraus und **Beltrami** haben über Schutzwirkung normaler Sera bei Milzbrandinfektionen berichtet, nachdem sie feststellen konnten, daß Sera normaler Rinder, Pferde und Schafe in den gleichen Werten wie Milzbrandimmunsera wirksam und bei Kaninchen eine passive Immunität auszulösen imstande sind.

Centralblatt für Bakteriologie Abt. I. Orig. Bd. 84.
Gerhard Wagner*, Milzbrand- und milzbrandähnliche Bazillen.* **Taf. I.**

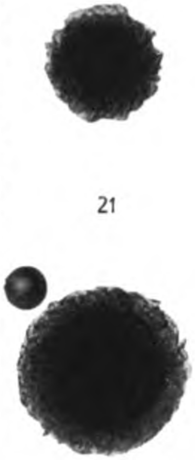

1
2
3
11
10
4
5
9
7
8
6
16
12
14
15
A
B
13
A
17
B
19 B
18 A

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

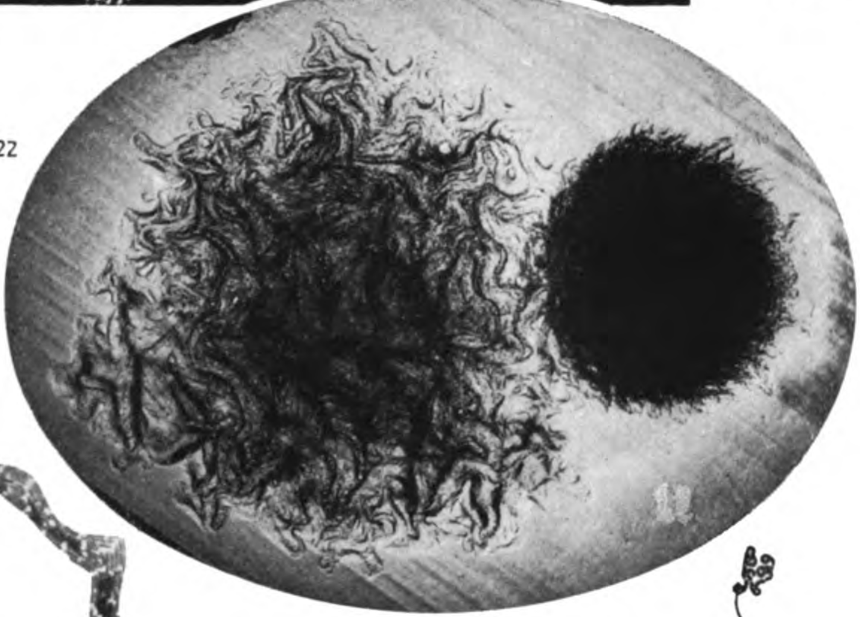
Centralblatt für Bakteriologie Abt. I. Orig. Bd. 84.
***Gerhard Wagner,** Milzbrand- und milzbrandähnliche Bazillen.* **Taf. II.**



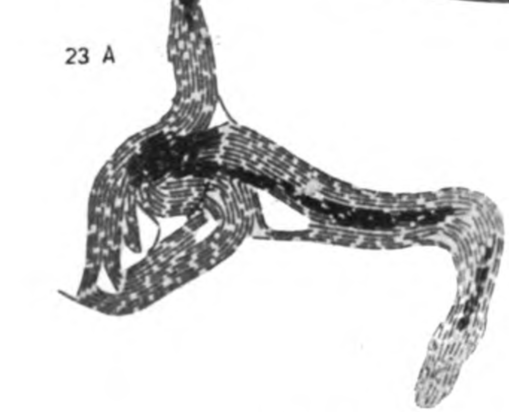
20



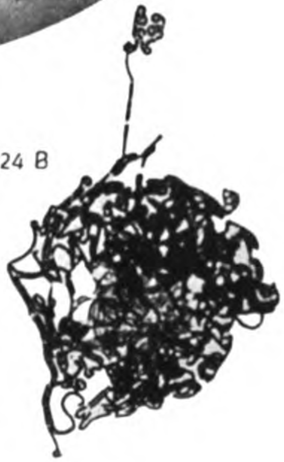
21



22



23 A



24 B

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Im Hinblick auf die Wichtigkeit dieser Befunde für die Praxis haben dann Kraus, Penna und Bonorino Cuenca experimentell ausgewertetes Serum von normalen, nicht vorbehandelten Tieren bei Milzbrand des Menschen auf seine Wirksamkeit geprüft und in 9 auf solche Art behandelten Milzbrandfällen immer Heilung erzielt, während von 8 Milzbrandfällen, bei denen Immunserum verwendet worden war, 2 letal endeten.

Neuerdings haben Hutyra und Manninger die Wirksamkeit des normalen Serums bei der Milzbrandinfektion in der von Kraus und Beltrami angegebenen Weise an jungen Kaninchen überprüft und sind auf Grund dieser Versuche zu dem Ergebnis gekommen, daß Sera von normalen Pferden, Rindern und Schafen, im Gegensatze zu Immunseris vom Pferd und Rind, junge Kaninchen nicht gegen die subkutane virulente Milzbrandinfektion zu schützen vermochten.

Im Verlaufe der Milzbrandserumbereitung an Pferden in der Tierimpfstoffgewinnungsanstalt in Mödling hat sich wiederholt Gelegenheit geboten, die Wirksamkeit von Immun- und Normalserum bei der Milzbrandinfektion nebeneinander zu beobachten, da hier bei der Auswertung des Milzbrandserums an Kaninchen dem Kontrolltier jedesmal eine Dosis von normalem Pferdeserum injiziert wird, die ebenso hoch ist, wie die höchste Dosis in der Versuchsreihe des auszuwertenden Immunserums.

Das Verhalten solcher zur Auswertung verwendeter Sera, die von 3 immunisierten und von 10 normalen Pferden, 1 normalen Schafe und einem nicht vorbehandelten Rinde stammten, ist aus den nachstehenden Tabellen, die den Institutsprotokollen entnommen worden sind, zu ersehen. Für die Infektion wurde stets der Laboratoriumsstamm Mbr VII verwendet, von dem $^{1}/_{10000}$—$^{1}/_{100000}$ Oese einer 48-stünd. Agarkultur Kaninchen in 2—3 Tagen tötet. Zwischen der intravenösen Injektion des Serums und der subkutanen Infektion wurde in allen Versuchsreihen ein Intervall von 1—1$^{1}/_{2}$ Std. eingeschaltet.

8. Febr. 1918.
Serum intravenös. Kultur $^{1}/_{10000}$ Oese subkutan. Injektionsintervall: 1 Std.

Kaninchen		Serum		Ergebnis	Befund
No.	Gewicht g				
80	2210	2 ccm	Immunserum vom Pferd I	lebt	
31	2020	3 „		„	
46	2070	4 „		„	
107	2050	4 „	Normalserum vom Pferd 1	† in 2 Tagen	Milzbrand

5. April 1918.
Serum intravenös. Kultur $^{1}/_{100000}$ Oese subkutan. Injektionsintervall: 1$^{1}/_{2}$ Std.

Kaninchen		Serum		Ergebnis	Befund
No.	Gewicht g				
33	1500	2 ccm	Immunserum vom Pferd II	lebt	
75	1450	3 „		„	
20	2000	4 „		„	
28	1350	5 „		„	
164	1510	6 „		„	
93	1300	6 „	Normalserum vom Pferd 2	† in 3 Tagen	Milzbrand

26. Juni 1918.
Serum intravenös. Kultur $^{1}/_{10000}$ Oese subkutan. Injektionsintervall: 1 Std.

Kaninchen		Serum		Ergebnis	Befund
No.	Gewicht g				
5	1750	3 ccm	Immunserum vom Pferd I	† in 2 Tagen	Milzbrand
60	1950	4 „		lebt	
69	1800	5 „		„	
64	2050	5 „	Normalserum vom Pferd 3	† in 2 Tagen	Milzbrand

13. Juli 1918.

Serum intravenös. Kultur $^1/_{10000}$ Oese subkutan. Injektionsintervall: 1 Std.

Kaninchen		Serum		Ergebnis	Befund
No.	Gewicht g				
62	1400	2 ccm	Immunserum vom Pferd II	lebt	
191	1250	3 „		† in 5 Tagen	Milzbrand
162	1100	4 „		lebt	
164	1260	5 „		„	
146	1920	5 „	Normalserum vom Pferd 4	† in 4 Tagen	Milzbrand

19. April 1918.

Serum intravenös. Kultur $^1/_{10000}$ Oese subkutan. Injektionsintervall: 1 $^1/_2$ Std.

Kaninchen		Serum		Ergebnis	Befund
No.	Gewicht g				
153	1900	2 ccm	Immunserum vom Pferd II	lebt	
180	2050	3 „		„	
167	1300	4 „		„	
200	1500	5 „		„	
184	1550	5 „	Normalserum vom Pferd 5	† in 2 Tagen	Milzbrand

10. Mai 1918.

Serum intravenös. Kultur $^1/_{10000}$ Oese subkutan. Injektionsintervall: 1 $^1/_2$ Std.

Kaninchen		Serum		Ergebnis	Befund
No.	Gewicht g				
83	1700	2 ccm	Immunserum vom Pferd II	lebt	
76	1400	3 „		„	
169	1300	4 „		† in 24 Std.	negativ
20	2300	5 „		lebt	
116	1000	5 „	Normalserum vom Pferd 6	† in 2 Tagen	Milzbrand

23. April 1919.

Serum intravenös. Kultur $^1/_{10000}$ Oese subkutan. Injektionsintervall: 1 $^1/_2$ Std.

Kaninchen		Serum		Ergebnis	Befund
No.	Gewicht g				
188	1040	2 ccm	Immunserum vom Pferd II	† in 4 Tagen	Milzbrand
106	1070	3 „		lebt	
10	1080	4 „		„	
59	1080	5 „		„	
145	1070	5 „	Normalserum vom Pferd 7	† in 2 Tagen	Milzbrand

13. Juni 1919.

Serum intravenös. Kultur $^1/_{10000}$ Oese subkutan. Injektionsintervall: 1 Std.

Kaninchen		Serum		Ergebnis	Befund
No.	Gewicht g				
107	1050	2 ccm	Immunserum vom Pferd III	† in 4 Tagen	Milzbrand
2	1025	3 „		lebt	
77	1070	4 „		† in 4 Tagen	Milzbrand
127	1030	5 „		lebt	
55	1050	5 „	Normalserum vom Pferd 8	† in 2 Tagen	Milzbrand

24. Nov. 1919.

Serum intravenös. Kultur $^1/_{10000}$ Oese subkutan. Injektionsintervall: $1^1/_2$ Std.

Kaninchen		Serum	Ergebnis	Befund
No.	Gewicht g			
55	1700	2 ccm Immunserum vom Pferd III	lebt	
152	1950	3 „	„	
82	2010	4 „	„	
114	2900	5 „	„	
195	1700	5 „ Normalserum vom Pferd 9	† in 4 Tagen	Milzbrand
125	1800	5 „ „ „ Schaf	† „ 2 „	„
132	1730	5 „ „ „ Rind	† „ 3 „	„

24. Nov. 1919.

Serum intravenös. Kultur $^1/_{10000}$ Oese subkutan. Injektionsintervall: $1^1/_2$ Std.

Kaninchen		Serum	Ergebnis	Befund
No.	Gewicht g			
95	1110	2 ccm Immunserum vom Pferd II	lebt	
16	1110	3 „	„	
45	1280	4 „	„	
135	1330	5 „	„	
96	1450	5 „ Normalserum vom Pferd 10	† in 3 Tagen	Milzbrand
77	1480	5 „ „ „ Schaf	† „ 2 „	„
175	1920	5 „ „ „ Rind	† „ 2 „	„

Während also die intravenöse Injektion der von 3 Pferden gewonnenen Milzbrandimmunsera in 10 Versuchsreihen die Kaninchen gegen die folgende subkutane Infektion mit virulentem Milzbrand zu schützen vermochte, konnte ebenso oft an den Seris von 12 normalen Tieren (10 Pferden, 1 Schaf und 1 Rind) eine Schutzwirkung nicht ermittelt werden.

Eine Erklärung dafür, daß Kraus und seine Mitarbeiter mit Seris von nicht vorbehandelten Tieren Schutz- bzw. Heilwirkung erzielt haben, könnte, wie Hutyra und Manninger andeuten, aus der Vermutung abgeleitet werden, daß diese vielleicht von auf den argentinischen Weiden mit Milzbrand latent infizierten Tieren stammenden Sera durch das Ueberstehen dieser Infektion einen für die Entfaltung einer Schutzwirkung genügenden Antikörpergehalt erlangten.

Demgegenüber ist zu erwägen, daß es bisher nicht gelungen ist, mit Seris spontan durchseuchter Tiere bei anderen Individuen Schutz- bzw. Heilwirkung auszulösen. Die in der Gesamtmenge eines solchen Serums enthaltenen Immunkörper reichen wohl aus, um den Organismus gegen die neuerliche Infektion zu schützen, nicht aber die in den bei Schutz- und Heilimpfungen adäquaten Serummengen enthaltenen Bruchteile dieser Schutzstoffe, die viel zu spärlich sind, um immunisierend zu wirken.

Spontan durchseuchte Tiere waren zwar nicht verfügbar, dagegen aber solche, welche bei der Auswertung des Milzbrandserums einer virulenten Infektion widerstanden hatten. Solche Tiere sind als serovakziniert anzusehen, und die Untersuchung ihres Serums gestattet wohl einen Rückschluß auf den Gehalt an Milzbrandgegenkörpern. Von diesen

Gedanken ausgehend, wurden die Sera der 3 Kaninchen 114, 135 und 82, die in den beiden zuletzt angeführten Milzbrandserumauswertungen vom 24. Nov. 1919 überlebten, am 11. Dez. 1919 auf ihre schützende Wirkung geprüft. Das in der nachstehenden Tabelle ersichtlich gemachte Versuchsergebnis läßt sich dahin zusammenfassen, daß mit den Seris dieser Kaninchen, in Dosen bis zu 20 ccm, eine schützende Wirkung gegenüber einer subkutanen Milzbrandinfektion bei jungen Kaninchen nicht erzielt werden konnte.

11. Dezember 1919.

Serum intravenös. Kultur $^1/_{10000}$ Oese Mbr VII, 48-stündig, subkutan. Injektionsintervall $1^1/_2$ Std.

Kaninchen		Serum	Ergebnis	Befund
No.	Gewicht g			
241	860	6 ccm Serum Kaninchen 135	† in 3 Tagen	Milzbrand
252	840	7 „ „ „ 135	† „ 2 „	„
294	870	13 „ „ „ 82	† „ 3 „	„
233	850	15 „ „ „ 82	† „ 2 „	„
290	860	15 „ „ „ 114	† „ 2 „	„
245	870	20 „ „ „ 114	† „ 3 „	„
Kontrolle	860		† „ 2 „	„
Kontrolle	870		† „ 3 „	„

Die natürliche, latente Infektion mit Milzbrand dürfte allerdings nicht analoge Verhältnisse setzen wie die Serovakzination, doch dürfte immerhin die Folgerung gestattet sein, daß durch Infektion mit geringen Keimmengen Antikörper im Serum nur so spärlich zur Entwicklung gelangen, daß ihm eine Schutzwirkung nicht zukommt.

Die Frage, weshalb Kraus und seine Mitarbeiter mit Normalserum Schutz- und Heilwirkung bei Milzbrandinfektion erzielen konnten, entzieht sich demnach vorderhand noch der Beantwortung.

Literatur.

1) Kraus, R., u. Beltrami, P., Ueber die Wirksamkeit des normalen Serums bei der Milzbrandinfektion. (Wien. klin. Wochenschr. 1917. S. 533.)
2) — Penna, J., u. Cuenca, Bonorino, Ueber die Wirksamkeit des normalen Rinderserums beim Milzbrand des Menschen. (Wien. klin. Wochenschr. 1917. S. 556.)
3) Hutyra, F., u. Manninger, R., Ueber die Wirksamkeit des normalen Serums bei der Milzbrandinfektion. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 83. 1919. H. 7.)

Inhalt.

Gerlach, Franz, Zur Frage der Wirksamkeit von normalem Serum bei der Milzbrandinfektion, S. 396.
György, Paul, Beitrag zur Systematik der Paracoli-Bazillen, S. 321.
Wagner, Gerhard, Beiträge zur Kenntnis der Milzbrand- und milzbrandähnlichen Bazillen, S. 386.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 84. Heft 6.

Ausgegeben am 21. Juli 1920.

Nachdruck verboten.

Ueber die Verbreitungsweise der Diphtheriebazillen im menschlichen Organismus.

[Aus dem Allgemeinen Krankenhaus Barmbeck-Hamburg.]

Von Dr. med. **Fr. Graetz.**

Während die ätiologische Bedeutung des Loefflerschen Diphtheriebazillus nach dem derzeitigen Stand unserer Kenntnisse als über jeden Zweifel erhaben gelten kann, widersprechen sich die Anschauungen der Forscher hinsichtlich einer zweiten nicht minder bedeutsamen Frage, ob nämlich das bekannte Krankheitsbild der Diphtherie lediglich als der Ausfluß einer Intoxikation zu betrachten sei, oder ob für dessen Entstehung auch eine mehr oder weniger regelmäßige bakterielle Allgemeininfektion des Organismus eine Rolle spiele.

Bereits in den grundlegenden Arbeiten von **Loeffler**, **Roux**, **Yersin** u. a. kommt die Auffassung zum Ausdruck, daß dem Diphtheriebazillus die Fähigkeit abgeht, in das Innere des Organismus einzudringen, daß sich seine Rolle vielmehr in einer lokalen Ansiedlung auf den Schleimhäuten mit anschließender Absonderung seines deletären Toxins erschöpft. Und diese Anschauung hat sich dann auch späterhin um so mehr Bahn gebrochen, als die biologischen Eigenschaften des fraglichen Toxins eine ausreichende Erklärung für die Schwere des Krankheitsbildes bei der Diphtherie gaben und die ätiologische Bedeutung des Toxins zudem auch durch die serotherapeutischen Studien von Behrings und seiner Schule eine weitere wirksame Stütze erhielt.

Aber all dieser Erkenntnis zum Trotz hat sich auch die Anschauung erhalten, daß der bakteriellen Infektion bei der Diphtherie bisher ungerechtfertigterweise zu wenig Bedeutung beigemessen worden sei, im Vergleich zur Intoxikation. In der Tat haben uns ja die eingehenden bakteriologischen Forschungen der letzten beiden Dezennien gezeigt, daß sich der Diphtheriebazillus keineswegs nur am klassischen Ort seiner Ansiedlung, nämlich im Nasenrachenraum und in den oberen Luftwegen, entwickelt, daß er vielmehr in den verschiedensten Regionen des Organismus festgestellt werden kann, und daß es heute wohl kaum eine Schleimhaut gibt, auf der nicht gelegentlich ein durch Diphtheriebazillen bedingter Krankheitsprozeß hätte festgestellt werden können.

Allerdings handelt es sich bei den erwähnten Prozessen in der Regel nur um sekundäre Komplikationen einer klassischen Diphtherie des Nasenrachenraums, die ihre Entstehung einer kontinuierlichen Fortleitung des diphtherischen Prozesses vom primären Krankheitsherde aus verdanken und auch stets den Charakter einer oberflächlichen Schleimhautaffektion tragen. Um eine bakterielle Allgemeininfektion, im strengen Sinne des Wortes, handelt es sich bei den erwähnten Vorgängen selbstverständlich nicht.

Aber auch hinsichtlich der Verbreitung der Mikroben auf dem Blut- bzw. Lymphwege, die ja für die Entscheidung der Frage, ob Intoxikation oder bakterielle Infektion, oder eine Kombination von beiden das Krankheitsbild bei der Diphtherie bestimmen, allein ins Gewicht fällt, haben uns die Erfahrungen der letzten beiden Dezennien, speziell die systematischen Blutuntersuchungen bei Infektionskrankheiten gezeigt, daß auch bei solchen Erkrankungen, bei denen wir eine ausschließlich oder doch vorwiegend lokale Entwickelung der Krankheitserreger zu beobachten pflegen, wie bei der Gonorrhoe, Meningitis epidemica und speziell bei der Diphtherie, mehr oder weniger häufig mit einem Einbruch der Bakterien in die Blutbahn und mit der Entstehung einer Bakteriämie, oder auch einer echten Septikämie gerechnet werden muß.

Die Angaben in der älteren Literatur sind darüber recht spärlich, wenn auch zweifellos vereinzelte eindeutige Befunde in dieser Richtung vorliegen. Eine systematische Bearbeitung hat diese Frage jedoch erst dann gefunden, als Frosch bei

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

seinen Leichenblutuntersuchungen in nicht weniger als 60 Proz. seiner Fälle virulente Diphtheriebazillen im Herzblute und außerdem noch in sämtlichen inneren Organen der an Diphtherie Verstorbener nachzuweisen vermochte. Daß dabei auch so gut wie regelmäßig die bronchopneumonischen Herde der Lunge die Diphtheriebazillen in mehr oder weniger großer Zahl enthielten, dürfte für die Beurteilung der Herzblutbefunde nicht ganz ohne Bedeutung sein, da sich ja heute wohl ziemlich allgemein die Anschauung Bahn gebrochen hat, daß die bakteriologischen Herzblutbefunde an Leichen keineswegs ohne weiteres mit gleichartigen intravitalen Verhältnissen parallel gesetzt werden dürfen, daß es sich vielmehr gerade hierbei vielfach um agonale oder postmortale Einwanderungen der Mikroben von benachbarten Krankheitsherden aus handelt. Für die Pathogenese der Bronchopneumonie bei der Diphtherie dürfte indessen, speziell nach den Untersuchungen von E. Reye, dem Diphtheriebazillus wohl mit Recht eine hohe Bedeutung zukommen, wenn auch zweifellos in zahlreichen Fällen der Diphtheriebazillus nur die Rolle eines Saprophyten oder Nosoparasiten spielen wird. Für das Eindringen der Diphtheriebazillen in die Lungen wird dabei wohl in erster Linie der direkteste Weg durch mechanische Aspiration in Frage kommen, wenn auch nach den Feststellungen von Spronck, Schmorl und Bulloch u. a. mit einer Tiefenwanderung der Diphtheriebazillen auf dem Lymphwege gerechnet werden muß, wobei allerdings für dieses Vordringen der Mikroben ein operativer Eingriff, d. h. eine Tracheotomie, die mehr oder weniger unerläßliche Voraussetzung zu sein scheint.

Daß die Vorbedingung des operativen Eingriffs indessen keineswegs die conditio sine qua non für das Eindringen der Diphtheriebazillen in den inneren Organismus darstellt, zeigen die einschlägigen Fälle von Diphtheriebazillenbakteriämien in vivo bei nicht operativ behandelten Fällen und der zweifelsfreie Nachweis der durch Diphtheriebazillen bedingten Endokarditisfälle bei nichttracheotomierten Kranken. Wenn man die ältere und neuere Literatur durchmustert, so gewinnt man den Eindruck, daß hinsichtlich der Möglichkeit des Eindringens der Diphtheriebazillen in den inneren Organismus unter den verschiedenen Forschern prinzipielle Differenzen in der Auffassung nicht mehr bestehen, daß aber hinsichtlich der Häufigkeit dieses Vorganges und dessen pathogenetischer Bewertung die Meinungen recht erheblich auseinandergehen.

Die schwebende Frage ist bis in die neueste Zeit herein von den verschiedensten Autoren studiert worden, ich nenne hier speziell außer Frosch noch Nowack, Pears, Bloch und Sommerfeld und nicht zuletzt die Angehörigen der verschiedenen Eppendorfer Schulen, unter ihnen Bonhoff, Leede, Roedelius und Strauch. Es würde mich natürlich zu weit führen, auf all die Einzelheiten dieser Forscher, die zudem in einer Monographie von Reiche eine eingehende Würdigung gefunden haben, hier einzugehen; sie sind in einer anderen Orts erscheinenden ausführlichen Abhandlung eingehend berücksichtigt. Hervorheben möchte ich nur die auffallende Tatsache, daß die Lösung dieses vorwiegend oder ausschließlich vitalen Problems von den meisten Forschern mit Hilfe von Blut- und Organuntersuchungen an der Leiche angestrebt wurde, während die intravitalen Blutuntersuchungen einen recht bescheidenen Raum einnehmen. Merkwürdigerweise tritt bei den verschiedenen Autoren immer wieder der Versuch in Erscheinung, die Blut- bzw. die Organbefunde an der Leiche als den Ausdruck gleichsinniger Vorgänge in vivo zu betrachten, obgleich doch eine vorbehaltlose Anerkennung der besonders von manchen Autoren vertretenen Anschauung nicht mehr und nicht weniger hieße, als unsere in jahrzehntelangen mühevollen Arbeiten gewonnenen Anschauungen über die Biologie des Diphtheriebazillus von Grund auf einer Revision zu unterziehen. Wenn man z. B., um einen besonders krassen Fall herauszugreifen, bei Bonhoff auf die Ansicht stößt, daß die von ihm bei einer Anzahl von Leichen im Liquor cerebrospinalis nachgewiesenen Diphtheriebazillen bereits in vivo in das Schädelinnere eingedrungen sein und möglicherweise später als die Ursache von diphtherischen Lähmungen in Frage kommen könnten, so muß man sich unwillkürlich fragen, ob denn die, im Verhältnis zur Gesamtzahl aller Diphtheriefälle doch äußerst spärlichen Befunde von Diphtheriebazillen im Herzblut und in den inneren Organen bereits genügen könnten, um die bisher bestehende, klinisch und experimentell gut gestützte Lehrmeinung über den Haufen zu werfen.

Alles in allem muß man aus dem Gesamtergebnis der bisher vorliegenden einschlägigen Untersuchungen doch vielmehr den Schluß ziehen, daß zweifellos diejenige Auffassung zu Recht besteht, welche den Uebertritt des Diphtheriebazillus ins Blut und in die inneren Organe als einen Ausnahmezustand von hohem theoretischen, aber geringem praktischen Interesse betrachtet. Man muß sich deshalb nicht wundern, wenn man bei einem erfahrenen und kritischen Kliniker, wie Reiche, angesichts der von ihm und seinen Schülern erhobenen intravitalen Blutbefunde, hinsichtlich der nosologischen Bewertung der postmortal erwiesenen Bakteriämien bei Diphtherie auf einen im wesentlichen ablehnenden Standpunkt trifft. Und dieser ablehnende Standpunkt scheint noch gerechtfertigter, wenn man bedenkt, daß es einem erfahrenen Untersucher wie Simonds bei seinen einschlägigen Untersuchungen an einem immerhin beachtungswerten großen Material von teilweise schwersten Fällen niemals gelungen ist, den Nachweis von Diphtheriebazillen im Herzblut der an Diptherie Verstorbenen zu führen, und daß andererseits der Nachweis der fraglichen Mikroben oftmals von Zufallsmomenten und von der Auswahl besonderer Anreicherungsmethoden abhängig ist.

Nachdem ich nun versucht habe, den bisherigen Stand unserer Kenntnisse über die Verbreitungsweise der Diphtheriebazillen im menschlichen Organismus in kurzen Umrissen zu zeichnen, möchte ich an der Hand eigener Untersuchungen kritisch Stellung zu dieser Frage nehmen.

Im Hinblick auf die Gepflogenheit meiner Vorgänger, hielt ich es ebenfalls für zweckmäßig, an einem größeren Material von Leichenblutuntersuchungen einen Einblick in die einschlägigen Verhältnisse zu gewinnen. Die Gelegenheit hierzu bot sich mir in den Jahren 1913—1917 während einer mit hoher Mortalität einhergehenden Diphtherieepidemie in ausreichendem Maße. Wir konnten in dem genannten Zeitraum bis zum März 1917 insgesamt bei 185 an Diphtherie verstorbenen Individuen, meist Kindern, innerhalb der ersten 24 Std. post mortem das Herzblut untersuchen, welches durch Punktion des rechten Ventrikels steril gewonnen wurde, und fanden dabei in 53,51 Proz. der Fälle ein keimhaltiges Blut vor. Dabei handelte es sich aber keineswegs ausschließlich um Diphtheriebazillenbefunde, sondern vorwiegend um Befunde von hämolytischen Streptokokken, Pneumokokken, Coli u. a. Der Nachweis der Diphtheriebazillen gelang uns, trotz Anwendung verschiedenartigster Anreicherungsmethoden, nur bei 12,79 Proz. der keimhaltigen Fälle, was für das Gesamtmaterial einem Prozentsatz von 5,95 fürs Hundert entsprach. Nur 3mal hatten wir bei unseren Untersuchungen Reinkulturen von Diphtheriebazillen angetroffen; in den übrigen Fällen handelte es sich stets um Mischkulturen, sei es mit Streptokokken, Pneumokokken oder mit irgendeinem der anderen oben erwähnten Keime. Dabei möchte ich gleich hervorheben, daß sich die Diphtheriebazillen in verschiedenen Fällen nur in spärlichsten Mengen vorfanden und sich nur mit Hilfe von Anreicherungsmethoden und verlängerten Kulturzeiten nachweisen ließen.

Morphologisch und kulturell handelte es sich bei den aus Leichenblut gezüchteten Stämmen fast durchweg um typische Repräsentanten des Diphtheriebazillus. Nur einer unserer Stämme zeigte, frisch aus dem Körper gezüchtet, eine morphologische Atypie, die sich bei weiterer Kultur auf künstlichen Nährböden verlor, um bei erneuter Passage durch den Tierkörper wieder zurückzukehren. Hinsichtlich der Tierpathogenität konnten nur etwa 50 Proz. der aus dem Herzblut gezüchteten Stämme als typisch angesprochen werden. Der Rest ließ selbst bei wiederholten Prüfungen eine Tierpathogenität vermissen, eine Erfahrung, die wir auch sonst bei zahlreichen Diphtheriestämmen, namentlich soweit sie von Keimträgern, Rekonvaleszenten und Patienten mit langer Krankheitsdauer stammten, sammeln konnten. Wir befinden uns in dieser Hinsicht in Uebereinstimmung mit Jacobsthal, der dieses Verhalten seiner Stämme im Sinne einer biologischen Umwandlung innerhalb des infizierten Organismus deutet, eine Auffassung die sowohl durch unsere Befunde, wie durch die erfolgreichen experimentellen Abschwächungsversuche Römers eine entschiedene Stütze gewinnt. Angesichts der von verschiedenen Seiten aufgestellten Forderungen, die aus der Leiche gezüchteten Diphtheriebazillen nur bei positivem Tierversuch als echt anzusprechen, möchte ich jedoch betonen, daß nach meinen Erfahrungen an zahlreichen Diphtheriekulturen an dieser Forderung nicht bedingungslos festgehalten werden darf, daß die Identifizierung eines fraglichen Stammes als Diphtheriebazillus bei ausreichenden kulturellen und morphologischen Merkmalen nicht von dem Ausfall der Pathogenitätsprüfung abhängig gemacht werden darf.

Die objektive Tatsache einer Einschwemmung des Diphtheriebazillus in die Blutbahn und damit in die inneren Organe haben auch unsere Untersuchungen bestätigt, wenn die Ergebnisse auch zahlenmäßig gegenüber früheren Angaben erheblich abweichen. Einen interessanten Ueberblick ergibt uns dabei eine prozentuale Berechnung aller bisher, einschließlich unserer eigenen Untersuchungen, erhobenen Befunde. Bis zum Abschluß unserer einschlägigen Studien im Oktober 1917 war insgesamt, einschließlich unseres eigenen Materials, bei 2478 Individuen, die einer Diphtherieinfektion erlegen waren, eine bakteriologische Herzblutuntersuchung vorgenommen worden; nur bei 1118 Fällen wurde das Herzblut steril befunden, während es sich nicht weniger als 1356mal, d. h. bei 54,72 Proz. der Fälle, als infiziert erwies. Trotz dieser erheblichen Zahl keimhaltiger Blutproben konnten von allen Untersuchern zusammen Diphtheriebazillen nur 135mal im Herzblut nachgewiesen werden, was für die keimhaltigen Fälle einem Prozentsatz von 9,95 Proz., für das Gesamtmaterial aber nur einem solchen von 5,45 Proz. entspricht. Einzelne Untersucher fanden ja allerdings wesentlich höhere Werte, ja es werden selbst Werte zwischen 20 und 60 Proz. angegeben, doch bewegt sich der Durchschnittswert im allgemeinen auf der oben angegebenen Höhe. Aus der Unterschiedlichkeit der verschiedenen Befunde ergibt sich naturgemäß auch die Stellungnahme des einzelnen Autors zur Frage, ob die Bakteriämie bei der Diphtherieinfektion als ein seltenes oder als ein häufiges, möglicherweise sogar als ein regelmäßiges Vorkommnis angesehen werden muß.

Ich selbst kann mich auf Grund des mir bis heute zugänglichen Tatsachenmaterials nicht zu der Auffassung bekennen, daß die Einschwemmung des Diphtheriebazillus in die Blut- und Lymphbahn eine häufige oder gar regelmäßige Erscheinung darstellt und demgemäß eine Berechtigung zu einer veränderten nosologischen Auffassung der Diphtherieinfektion nicht anerkennen, namentlich angesichts der vielen Zehntausende von Diphtheriefällen, wo es sicher niemals zu einer Tiefenwanderung der Diphtheriebazillen oder gar zu einer Bakteriämie kommt.

Was in letzter Linie die zahlenmäßigen Unterschiede in den Diphtheriebazillenbefunden der einzelnen Untersucher anlangt, so war es bisher nicht möglich, eine befriedigende Erklärung dafür zu geben, und nach meinen einschlägigen Erfahrungen wird uns auch heute eine nach allen Richtungen befriedigende Antwort auf diese Frage kaum möglich sein. Die Verschiedenheit der Untersuchungstechnik kann als Erklärung um so weniger in Frage kommen, als gerade Untersucher wie Reiche und seine Schüler, Jacobsthal u. a., welche mit verfeinerten Methoden gearbeitet haben, eine geringere Ausbeute erzielten als andere Untersucher, die sich der gebräuchlichen Untersuchungsmethoden bedienten. Zweifellos spielt die Zusammensetzung des jeweils bearbeiteten Materials eine große, oftmals die ausschlaggebende Rolle, und daß dem Zufall vielfach eine entscheidende Rolle zukommt, tritt bei einer Gegenüberstellung der einzelnen Materialien besonders scharf in Erscheinung. Meist handelt es sich bei den veröffentlichten Untersuchungsreihen um ein sehr wenig umfangreiches Material, und gerade ein kleines Material ist geeignet, das Urteil über die tatsächlichen Verhältnisse bezüglich der Häufigkeit oder Seltenheit eines Befundes irrezuführen. Selbst innerhalb des gleichen Institutes zeigen sich erhebliche Schwankungen in den Befunden während verschiedener Jahrgänge, und man müßte, je nachdem das Material des einen oder anderen Jahrganges der Beurteilung zugrunde gelegt würde, zu erheblich unterschiedlichen Urteilen kommen. Das Material jeder einzelnen Periode für sich betrachtet, müßte unbedingt ein falsches Bild der tatsächlichen Verhältnisse geben, während der Durchschnittswert eines großen Materials naturgemäß den tatsächlichen Verhältnissen bedeutend näher kommt.

Ich habe oben davon gesprochen, daß für die Häufigkeit der Diphtheriebazillen im Leichenblut Zufälligkeiten in der Zusammensetzung des Materials maßgebend sein könnten. Selbstverständlich kann es sich dabei nur um Zufälligkeiten hinsichtlich rein äußerlicher Verhältnisse, wie Schwere der Epidemie, Höhe der Mortalität, Häufigkeit der Komplikationen, handeln. Die wechselseitigen Verhältnisse zwischen bakteriologischen Blutbefunden und anatomischen Veränderungen im Organismus der Verstorbenen brauchen dadurch in keiner Weise berührt zu werden; vielmehr können in dieser Beziehung absolute Gesetzmäßigkeiten obwalten.

Sowohl in älteren wie in neueren Arbeiten ist nun wiederholt und nicht ganz mit Unrecht die Auffassung vertreten worden, daß namentlich die Vornahme von Tracheotomien für das Eindringen von Diphtheriebazillen in die regionären Lymphdrüsen und speziell auch ins Herzblut verantwortlich gemacht werden müssen, und es liegen eindeutige Beobachtungen aus älterer (Bulloch und Schmorl) und neuerer Zeit (Plange und Schmitz) vor, aus denen eine Begünstigung des Tiefenwachstums der Diphtheriebazillen durch operative Eingriffe erkennbar ist. Auch das Ergebnis unserer eigenen Untersuchung spricht durchaus im Sinne der erwähnten Beobachtung, wonach ein operativer Eingriff in vivo den Keimgehalt des Blutes im Sinne einer Vermehrung der keimhaltigen Fälle beeinflußt. Dies gilt sowohl für den Bakteriengehalt des Leichenblutes im allgemeinen und für die Häufigkeit der Diphtheriebazillenbefunde im besonderen. Bei unserem eigenen Material trat der Unterschied zwischen tracheotomierten und nichttracheotomierten Fällen besonders scharf in Erscheinung, da wir bei den tracheotomierten Fällen eine positive Ausbeute an Diphtheriebazillen von 20,69 Proz., bei den nichttracheotomierten Fällen eine solche von nur 3,2 Proz. erzielen konnten. Der begünstigende Einfluß des operativen Eingriffs auf den Keimgehalt des Leichenblutes speziell an Diphtheriebazillen steht somit außer jedem Zweifel, wenn auch die Tracheotomie keineswegs als die conditio sine qua non anzusehen ist, zumal auch andere anatomische Veränderungen für das Eindringen der Diphtheriebazillen in die Blutbahn verantwortlich gemacht werden müssen.

Unter den tödlich endenden Fällen von Diphtherie überwiegen bei weitem die frischen Fälle, und bei diesen treffen wir fast mit Regelmäßigkeit mehr oder weniger ausgeprägte bronchopneumonische Herde der Lunge als Komplikation an, und diese Herde zeichnen sich durch einen regelmäßigen Gehalt an Bakterien der verschiedensten Art und nicht zuletzt an Diphtheriebazillen aus, eine Tatsache, die bei den engen Beziehungen zwischen dem Lymph- und Blutgefäßsystem der Lungen und dem übrigen Kreislauf mit ziemlicher Schärfe auf diese bronchopneumonischen Herde als auf die Quelle der agonalen oder postmortalen

Invasion der Bakterien ins Herz hinweist. In unseren eigenen Versuchsreihen wurden bei nicht weniger als 47,56 Proz. aller Fälle mehr oder weniger ausgedehnte bronchopneumonische Herde angetroffen. Unter den genannten Fällen überwogen nun die keimhaltigen Blutproben bei weitem, und zwar wurde bei 60,26 Proz. derselben ein keimhaltiges Herzblut angetroffen, während bei den übrigen 39,34 Proz. das Blut steril befunden wurde. Nahezu umgekehrt lagen die Verhältnisse bei der 2. Serie von Fällen, d. h. bei Individuen ohne anatomische Veränderungen der Lunge. In dieser Untersuchungsreihe erwies das Blut bei 36,08 Proz. sich als keimhaltig, während der Rest von 63,92 Proz. ein steriles Herzblut aufwies.

Man wird nach derartigen Befunden wohl nicht fehlgehen, wenn man annimmt, daß die bronchopneumonischen Herde der Lunge einen wesentlichen Faktor für die Entstehung der postmortal angetroffenen Bakteriämie des Herzblutes darstellen, wenn sie nicht überhaupt in den meisten Fällen die alleinige Ursache bilden, zumal ja eine weitgehende Uebereinstimmung zwischen dem Bakteriengehalt des Herzblutes und der, in den bronchopneumonischen Herden angetroffenen Bakterienflora besteht; das gilt sowohl für die Bakterienbefunde im allgemeinen, wie für die Diphtheriebazillenbefunde im speziellen.

Andere anatomische Veränderungen dürften für das Eindringen der Diphtheriebazillen wohl kaum in Frage kommen.

Aus den bisherigen Erörterungen ergibt sich im wesentlichen die Tatsache, daß sich das Herzblut der an Diphtherie Verstorbenen in einer großen Zahl von Fällen durch Bakterien der verschiedensten Art als infiziert erweist, und daß bei einem verschwindend kleinen Prozentsatz der Fälle der Loefflersche Diphtheriebazillus teils in pathogener Form, teils in einer tierapathogenen Spielart angetroffen wird. Es muß also auch dem Diphtheriebazillus die Fähigkeit zugesprochen werden, den Ort seiner primären Ansiedlung zu verlassen und in tiefere Gewebspartien, speziell auch ins Blut und in die inneren Organe einzudringen.

Damit erhebt sich naturgemäß die bereits eingangs aufgeworfene Frage, ob die Sonderstellung der Diphtherieerkrankung aufrecht erhalten werden kann, oder ob eine Aenderung der nosologischen Auffassung der Diphtherie insofern erforderlich ist, als auch in der bakteriellen Allgemeininfektion ein wesentlicher Faktor für die Gestaltung des Krankheitsbildes zu erblicken wäre.

Bei den bisher mitgeteilten Befunden handelt es sich, wie ich nochmals hervorheben möchte, ausschließlich um Feststellungen am Leichenmaterial, für die ein Beweis der Gleichsinnigkeit mit intravitalen Verhältnissen erst erbracht werden muß. Wir sind allerdings geneigt, analog den an der Leiche vorgefundenen anatomischen Verhältnissen, auch die bakteriologischen Befunde der erkrankten Organe als den Ausdruck entsprechender Veränderungen zu betrachten. In vielen Fällen wird der Bakteriengehalt der erkrankten Organe, falls die Erkrankung bakterieller Aetiologie ist, qualitativ dem intravitalen Zustande entsprechen. Hinsichtlich der quantitativen Verhältnisse wird aber auch bei gut konservierten Leichen schon kurze Zeit nach dem Tode eine wesentliche Veränderung eingetreten sein, da es sich bei dem bakteriellen Virus um ein lebendes, vermehrungsfähiges Agens handelt, welches bei Wegfall des hemmenden Einflusses des vitalen Säftestromes eine erheblich intensivere Ausbreitung erfahren wird, zumal gleichzeitig das tote Substrat des Organismus den denkbar besten Nährboden abgeben würde.

Mit der zunehmenden Ausbreitung und Vermehrung des bakteriellen Virus rückt die Möglichkeit seiner Invasion in Blut und Lymphbahnen bedeutend näher.

Liegen dann zudem die bakterienhaltigen Krankheitsherde im Bereich der großen Gefäße, so wird diese Lagerung, wie Schottmüller seinerzeit hervorgehoben hat, den Einbruch der Bakterien in die Blutbahn entschieden begünstigen. Man wird also selbst angesichts der Leichenbefunde, im Gegensatz zu Eugen Fränkel und seinen Schülern, in den bakteriologischen Leichenbefunden keineswegs unter allen Umständen den Ausdruck gleichsinniger, intravitaler Verhältnisse sehen dürfen, und auch die bakteriologischen Organbefunde wird man nicht ohne weiteres als ätiologisch bedeutsam für die intravitalen Vorgänge und Veränderungen betrachten können.

Strauch, ein Schüler Eugen Fränkels, ist sich des Widerspruches zwischen den tatsächlichen Befunden und seiner theoretischen Auffassung auch bewußt geworden, und glaubt, diesen Widerspruch dadurch beseitigen zu können, daß er für das früheste Kindesalter mit seiner auffallend häufigen bakteriellen Infektion des Leichenblutes und für das an positiven Befunden nicht weniger arme Greisenalter in einem frühzeitigen Verschwinden der bakteriziden Kräfte die Vorbedingung für einen leichteren Einbruch in die Blutbahn gegeben sieht.

Für die Diphtherie als eine Infektion vornehmlich des Kindesalters wären diese Vorbedingungen im Sinne Strauchs wohl in den meisten Fällen erfüllt, ganz abgesehen von der oben schon erwähnten Häufung von bronchopneumonischen Herden der Lungen, die durch ihre Lage im unmittelbaren Bereich der großen Gefäße auch im Sinne Schottmüllers zur günstigen Vorbedingung für den agonalen, bzw. postmortalen Einbruch der Bakterien in die Blutbahn werden könnte.

Durch die vitalen Eigenschaften der lebenden Gefäßwand und wohl auch durch die bakteriziden Eigenschaften des gesamten Säftestroms wird ein Einbruch der Bakterien während des Lebens in der Regel verhindert, bis das Uebergewicht der Infektion bei dem allmählichen Versagen der humoralen und zellulären Schutzkräfte die Vorbedingungen für eine Invasion zugunsten der Bakterien verschiebt. Wir finden nach Erlöschen des Lebens die bakterielle Infektion des Leichenblutes fast mit ebensolcher Regelmäßigkeit, wie wir sie bei intravitalen Blutuntersuchungen vermissen, auch wenn wir schwere und schwerste Stadien mit septischem Charakter prüfen. In vivo reicht offenbar auch die durch die Toxinwirkung sicher bereits geschädigte Widerstandskraft der Gefäßwand aus, um dem Einbruch der Bakterien mit Erfolg Einhalt zu gebieten, zumal bei ausreichender Unterstützung durch die humorale Bakterizidie. Mit zunehmendem Verfall der humoralen Schutzkräfte verliert allerdings dann auch der zelluläre Schutzwall seine Widerstandskraft, und es wird oft nur von äußeren Umständen abhängen, ob die Bakteriämie bereits agonal, oder erst postmortal zur Entwicklung kommen kann. Zweifellos wird ein großer Teil der im Herzblut gefundenen Keime auch in vivo eine ätiologische Rolle gespielt haben und für die Gestaltung des Krankheitsbildes bedeutsam geworden sein, wenn auch die Rolle der fraglichen Mikroben meist auf eine vorwiegend lokale Wirkung beschränkt bleibt, sofern nicht, wie beim Diphtheriebazillus, deletäre Stoffwechselprodukte abgeschieden werden. Der Einbruch der Mikroben in die Blutbahn in vivo gehört aber, ganz im Gegensatz zur Häufigkeit der Bakterienbefunde an der Leiche, auch bei schweren und schwersten Fällen von Diphtherie zu den seltensten Ausnahmen, und eine Schlußfolgerung aus den Leichenblutbefunden auf die vitalen Vorgänge wäre ein verhängnisvoller Irrtum.

Das zeigen vor allem die intravitalen Blutuntersuchungen Reiches und seiner Schüler, die bei 242 Blutuntersuchungen am Lebenden nur 9mal einen Bakteriengehalt des Blutes bei schweren und schwersten Fällen antrafen. Und unter den kulturell gewonnenen Bakterien befanden sich nur 3mal Diphtheriebazillen; bei den restlichen 96 Proz. der Fälle war das Blut steril.

Auch unsere eigenen, intravitalen Blutuntersuchungen decken sich weitgehendst mit den Ergebnissen Reiches und seiner Schüler, obgleich wir ebenfalls schwerste Fälle unter Heranziehung von Anreicherungsmethoden zur Untersuchung auswählten. Wir selbst untersuchten 215 Fälle, teilweise zu wiederholten Malen, und fanden, trotz des septischen Charakters derselben, bei 95,5 Proz. ein steriles Blut. Nur bei 10 Fällen (4,5 Proz.) gelang uns der Nachweis von Bakterien. Meist handelte es sich um Streptokokken oder Pneumokokken und nur 1mal gelang uns der Nachweis von Diphtheriebazillen. Daß es sich bei letzterem um einen morphologisch atypischen Stamm handelte, sei nur nebenbei erwähnt.

Die intravitalen Blutbefunde enthalten also gewiß keine Berechtigung zu einer veränderten nosologischen Auffassung der Diphtherie, wenn auch natürlich anerkannt werden muß, daß der Diphtheriebazillus gelegentlich in den Kreislauf eindringen und an seiner Ablagerungsstelle spezifische Organveränderungen wie Endokarditiden etc. hervorrufen kann. Doch handelt es sich bei solchen Vorkommnissen zweifellos um pathologische Curiosa, die in ihrer Ausnahmestellung nur die Regel bestätigen, daß der Diphtheriebazillus zu jener kleinen Gruppe von Bakterien gehört, welche vom Ort ihrer primären Ansiedlung aus durch Absonderung hochtoxischer Stoffwechselprodukte schädigend auf den Organismus ihres Trägers einwirken, bei denen also die Infektion gegenüber der Intoxikation in den Hintergrund tritt.

Daß die Diphtherie bereits heute die Sonderstellung verloren haben soll, welche sie seit Loeffler unter den Infektionskrankheiten einnahm, kann bei einigermaßen kritischer Bewertung des vorliegenden Materials wohl kaum behauptet werden.

An der nosologischen Auffassung der Diphtherie vermögen im übrigen auch die spärlichen, wirklich eindeutigen Befunde von Diphtherie-Bazillen im Harn von Diphtheriekranken nichts zu ändern, wenngleich derartige Befunde, unter der Voraussetzung einer sachgemäßen Untersuchungstechnik, naturgemäß eine, wenn auch vorübergehende, Bakteriämie zur Vorbedingung hätten. Daß bei mehreren Untersuchern diese Vorbedingungen in keiner Weise erfüllt waren, hat M. Neisser seinerzeit mit Recht in aller Schärfe hervorgehoben. Die Lehre zur strengsten Kritik ergibt sich aus derartigen Feststellungen für die Bewertung solcher Befunde wohl für jeden exakten Forscher von selbst. Uns selbst ist es bei Untersuchungen einer größeren Zahl von Urinen schwerer Diphtheriefälle auch nicht ein einziges Mal gelungen, Diphtheriebazillen im Harn nachzuweisen, obgleich sich unter unseren Patienten solche mit schwersten Nierenveränderungen und demgemäß mit erhöhter Durchlässigkeit des Ausscheidungsorgans befanden. Wir wollen trotzdem die Möglichkeit einer Ausscheidung der Diphtheriebazillen durch den Harn

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

nicht prinzipiell ablehnen, wenn wir sie auch als äußerst selten und nosologisch als wenig bedeutsam ansprechen müssen.

Vor allem können wir in den bisher vorliegenden Urinbefunden ebensowenig wie in den Blutbefunden einen Beweis dafür erblicken, daß die Bakteriämie mit Diphtheriebazillen gewissermaßen als unbedingt zum Krankheitsbild der Diphtherie gehörig gelten muß.

Wir müssen uns angesichts der zwar seltenen, aber immerhin tatsächlichen Feststellung der Bakteriämie durch Diphtheriebazillen allerdings über die pathogenetische Bedeutung dieser Bakteriämien klar werden und die Frage zu beantworten suchen, ob denn zur restlosen Erklärung des Krankheitsbildes der Diphtherie die Annahme einer bakteriellen Infektion neben einer Intoxikation unbedingt erforderlich ist.

Es kann nach unseren heutigen Kenntnissen wohl als sicher gelten, daß das bekannte, auch im Reagenzglas darstellbare Diphtherietoxin als die wesentlichste Ursache der bei Diphtherieinfektionen entstehenden anatomischen Organveränderungen und der daraus sich ergebenden Allgemeinstörungen des Organismus zu gelten hat. An dieser universellen Bedeutung sind allerdings in neuester Zeit, angesichts des häufigen Versagens der Serumtherapie, erhebliche Zweifel laut geworden. Vor allem hat Fahr, gestützt auf eingehende anatomische Studien, diese Frage aufgerollt und auf Grund seiner histologischen Organbefunde der Anschauung Ausdruck gegeben, daß sich mit der Annahme eines einheitlichen, nur quantitativ verschiedenen Toxins eine restlose Erklärung der qualitativ verschiedenen Organveränderungen nicht ermöglichen lasse. Fahr zieht aus seiner Feststellung, „daß die Veränderungen, die bei der reinen unkomplizierten Diphtherie an den verschiedenen Organen beobachtet werden, nicht nur quantitativ, sondern auch qualitativ verschieden sind, den naheliegenden Schluß, daß die Giftstoffe, die bei der Diphtherie im Körper kreisen, ebenfalls nicht nur quantitative, sondern auch qualitative Unterschiede aufweisen.“ Dabei weist Fahr mit Recht darauf hin, daß eine kritische Betrachtung des diphtherischen Prozesses im Körper die bislang geübte schematische Identifizierung des Reagenzglastoxins mit dem in vivo wirksamen Toxin zum mindesten nicht für alle Fälle angängig erscheinen lasse.

Schottmüller hat demgegenüber die Möglichkeit der absoluten Neutralisation des Reagenzglastoxins durch das Patientenserum als Beweis für die ätiologische Bedeutung des Toxins an sich und für die Identität des in vivo kreisenden Toxins mit dem experimentell gewonnenen Gift ins Feld geführt, eine Beweisführung, der man, ohne Ablehnung der Auffassung Fahrs, sicher in weitesten Grenzen zustimmen kann, da es keineswegs an Beobachtungen fehlt, welche die Brücke zu den beiden Anschauungen zu schlagen vermögen.

Es unterliegt keinem Zweifel, daß das Behringsche Serum, welches ja bekanntlich unter Zuhilfenahme des Reagenzglastoxins gewonnen wird, in vielen Fällen einen ebenso unverkennbar günstigen Einfluß auf den Verlauf der Diphtherie ausübt, wie es bei anderen Fällen, auch bei durchaus gleichen Vorbedingungen, mehr oder weniger versagt.

Diese Verschiedenartigkeiten des Krankheitsverlaufes im Rahmen der Serumbehandlung und Hand in Hand damit die Unterschiedlichkeit der Organveränderungen bei den der Infektion erlegenen Individuen läßt sich aber eigentlich nur schwer mit der Einheitlichkeit des Toxins in Einklang bringen, und es fehlt uns zunächst noch eine ausreichende

Erklärung dafür, warum in vielen Fällen die Serumtherapie von vornherein zur Aussichtslosigkeit verdammt erscheint.

Man hat in der experimentell erwiesenen unterschiedlichen Toxinproduktion der verschiedenen Diphtheriestämme des Rätsels Lösung zu finden geglaubt und damit teilweise auch das Richtige getroffen, da ein stark toxischer Stamm naturgemäß stürmischere Erscheinungen auslösen wird als ein schwacher Toxinbildner.

Aber damit erschöpft sich, wie Fahr mit Recht betont, das Problem nicht.

Es kann sich nach den Ergebnissen der Serumtherapie sicher nicht um rein qualitative Ergebnisse handeln, da einer quantitativen Absattigung des Toxins wohl auch im Körper keine allzu großen Schwierigkeiten erwachsen dürften. In der Tat hat man ja auch durch Darreichung höherer Immunitätseinheiten häufig Erfolge hinsichtlich der akuten Erscheinungen erzielt, ohne aber die Spätwirkungen der Intoxikation und vor allem den ungünstigen Ausgang im wesentlichen beeinflussen zu können.

An der bedeutsamen Rolle des bekannten Toxins bestehen im allgemeinen auch keine Zweifel, und auch Fahr lehnt die ätiologische Bedeutung des uns experimentell bekannten Toxins keineswegs ab; er wendet sich nur gegen die Auffassung, daß das in vitro dargestellte Toxin für alle Fälle mit dem im Körper des Erkrankten wirksamen Gifte zu identifizieren sei.

Es kann meines Erachtens als sicher gelten, daß das uns heute bekannte Toxin nichts weniger als den Gipfelpunkt unserer Erkenntnis bildet, daß es vielmehr nach Analogie des Toxons möglich erscheint, verschiedene Partialgifte des Diphtherietoxins mit spezifischer Wirkung zu gewinnen. Was den Menschen anlangt, so wissen wir auf Grund der Serumtherapie, daß tatsächlich auch bei der Diphtherieinfektion des Menschen ein dem experimentellen Toxin gleichartiges Gift zur Wirkung gelangt; in allen anderen Fragen stehen wir auf durchaus hypothetischem Boden, denn selbst über das Wie und Wo der Toxinbildung sind unsere Kenntnisse noch recht dürftig.

Auch unter der Voraussetzung einer absoluten Identität des Reagenzglastoxins mit dem am Orte der primären Bakterienansiedlung entstehenden Gifte besitzen wir keinen zwingenden Beweis, daß auch das an den Organen angreifende Gift noch mit diesem Reagenzglastoxin identisch sein müßte. Es muß doch als sehr wahrscheinlich gelten, daß der Diphtheriebazillus auf der lebenden Substanz des menschlichen Körpers mit all ihren biologischen Schwankungen und Wandlungsmöglichkeiten ein ganz anderes Feld für die Giftproduktion zur Verfügung hat, als es ihm ein stets gleichmäßig zusammengesetzter künstlicher Nährboden zu bieten vermag. Daß es uns bis jetzt nicht gelungen ist, mit Ausnahme des Toxons, auch noch andere Giftkomponenten des Diphtheriebazillus experimentell zu ermitteln, spricht höchstens für die Unzulänglichkeit unserer Methoden, aber nicht gegen die Existenz solcher Partialgifte.

Aber auch unter der Voraussetzung, daß das im Körper gebildete Toxin mit den experimentell darstellbaren als identisch gelten müßte, bedürfte es angesichts der Organveränderungen noch des Beweises, daß das Gift auf dem ganzen Wege von der Bildungsstätte bis zu den Angriffspunkten unverändert bleibt. Besitzen wir für eine derartige Umwandlung des Toxins auch keine direkten Beweise, so erscheint die

Wahrscheinlichkeit und Möglichkeit einer solchen Umwandlung sicher nicht geringer als die Möglichkeit, daß es unverändert von der primären Bildungsstätte bis zu den Organen gelangt. Einschlägige experimentelle Studien über die biologische Umwandlung des Toxins im tierischen Körper sprechen durchaus im Sinne der ersteren Auffassung.

Auch vom immunbiologischen Standpunkte aus erscheint die Annahme eines qualitativen Unterschiedes in der Toxinwirkung theoretisch durchaus gerechtfertigt, wobei dieser Unterschied bereits in der primären Giftwirkung bedingt sein, oder erst als Folge einer Wechselwirkung zwischen dem primären Toxin und den Körpersäften des Kranken in Erscheinung treten kann. Wir verbinden bekanntlich mit unserer Anschauung vom Wesen der bakteriellen Intoxikation die Vorstellung, daß die Schädigung einer bestimmten Zellart nur unter der Voraussetzung korrespondierender Rezeptoren zwischen Gift und Zelle stattfinden kann. Die Wirkung der toxophoren Gruppe ist nach unseren Kenntnissen unbedingt an die Existenz einer entsprechenden haptophoren Gruppe bei der fraglichen Gewebszelle gebunden.

Mit dieser immunbiologischen Auffassung von der Wirkung biologischer Gifte mit sogenanntem antigenen Charakter läßt sich aber auch die anatomische Erfahrung von der elektiven Wirkung spezifischer Gifte auf bestimmte Zellgruppen durchaus in Einklang bringen.

Anatomisch sehen wir bei der Diphtherie in den geschädigten Organen zwei prinzipiell verschiedene Angriffspunkte des Giftes, nämlich die funktionell differenzierten Parenchymzellen und außerdem den Blutgefäß-Bindegewebsapparat, wobei bald die eine, bald die andere Gewebskomponente allein, vielfach auch beide, von der Schädigung gemeinsam betroffen werden. Auf Grund unserer Erfahrungen über die biologische Sonderstellung funktionell differenzierter Organzellen müssen die beiden, entwicklungsgeschichtlich wohldifferenzierten Zellgruppen als mit differenten Rezeptoren ausgestattet und somit als befähigt gelten, Gifte von verschiedener Konstitution in sich aufzunehmen. Jede der beiden Zellgruppen kann nun für sich getrennt erkranken, und die Erkrankung der einen schließt nicht notwendigerweise die Erkrankung der anderen in sich, eine Tatsache die, entsprechend unserer theoretischen Vorstellung, den Rückschluß aufdrängt, daß beim Fehlen einer bestimmten Zellveränderung auch ein Fehlen oder zum mindesten die Paralysierung einer bestimmten Giftwirkung angenommen werden kann, während die Schädigung bestimmter Zellgruppen auf die Existenz eines für diese Zellgruppe spezifischen Giftes hinweist.

Für diese Erscheinung der elektiven Zellschädigung ließe sich eine ausreichende Erklärung in der Annahme verschiedener Partialgifte des Diphtheriebazillus finden, zumal wir in der uns experimentell bekannten Toxonwirkung bereits eine analoge Partialgiftwirkung kennen.

Derartige Partialgifte können dem Wesen des Diphtheriebazillus somit keineswegs als fremd und damit als unvereinbar gelten, und ihre Annahme würde auch bei der Diphtherie, ebenso wie bei anderen Infektionskrankheiten, durchaus mit den uns bekannten Immunitätsvorgängen in Einklang zu bringen sein. Wir hätten also bei der Diphtherieinfektion an Stelle des uns bislang geläufigen und auf Grund experimenteller Studien als einheitlich angenommenen Toxins eine Vielheit von Partialgiften mit spezifischen und wohldifferenzierten Gewebsaffinitäten zu unterscheiden.

Unter diesen Partialgiften steht an erster Stelle das bekannte, schlechthin als Diphtherietoxin bezeichnete Stoffwechselprodukt, welches offenbar bei allen Fällen von Diphtherie gebildet wird und neben dem Toxon das einzige experimentell faßbare Partialgift darstellt und deshalb auch heute noch als alleiniges Substrat für die Herstellung der antitoxischen Immunsera verwendet wird.

Bei unseren serotherapeutischen Bestrebungen suchen wir diesem prominentesten aller Partialgifte entgegenzuwirken und gehen dabei von der sicher nicht mehr im vollen Umfange haltbaren Anschauung aus, daß sich die Wirkung des Diphtheriebazillus auch im menschlichen Organismus in der Bildung dieses speziellen Toxins erschöpft, ein Schematismus, auf dessen Konto das Versagen der Serumtherapie unstreitig in vielen Fällen zu setzen ist.

Es ist ja sicher, daß bei einer nicht geringen Zahl von Fällen das Versagen der Serumtherapie einer unrichtigen und zu späten Anwendung des Serums zu Lasten fällt, nicht aber der Unzulänglichkeit der Immunisierungsmethode an sich. Der Schwerpunkt liegt vielmehr bei jenen Fällen, bei denen das Serum trotz frühzeitiger Anwendung von vornherein versagt, oder wo der Organismus nach einer anfänglichen günstigen Beeinflussung des diphtherischen Prozesses durch das Serum schließlich doch den Spätwirkungen der Infektion, wie Herzinsuffizienz usw., erliegt.

Auch bei diesen zuletzt genannten Patienten wird eine Heilwirkung des Immunserums prinzipiell nicht in Abrede gestellt werden können, da durch die Ausschaltung größerer Mengen des im Organismus frei kreisenden Toxins eine erhebliche Entlastung des erkrankten Organismus und damit eine Erhöhung seiner Kampfkraft gegenüber der Infektion eintreten wird. Bei der beschränkten Zeitdauer der passiven Immunisierung und bei der spezifischen Abstimmung des Antiserums auf eine spezielle Toxinkomponente wird aber auch die Wirksamkeit des Immunserums naturgemäß eine begrenzte sein und demgemäß die Hauptaufgabe bei der Ueberwindung der Infektion und speziell bei der Ausschaltung der vom Immunserum nicht paralysierten Giftwirkung den Organzellen selbst zufallen. Von der aktiv immunisatorischen Leistungsfähigkeit der einzelnen Zellkomplexe wird dann der Erfolg für diese selbst und für den Gesammtorganismus abhängen.

Entgegen den Anschauungen Fahrs glaubt Hübschmann auf Grund anatomischer Organveränderungen bei Diphtherie nicht an die Notwendigkeit, qualitativ verschiedene Giftarten anzunehmen, sieht vielmehr in der von ihm wieder in die Diskussion geworfenen „individuellen Disposition“ das Wesentlichste für die Unterschiedlichkeit der Befunde, kommt aber hinsichtlich der Pathogenese der Herzveränderungen schließlich doch, wenn auch bedingt, zu der Fragestellung, ob das eigentliche Diphtherietoxin oder ein anderes Diphtheriegift die Ursache „der verschiedenen Prozesse ist“.

Auch wir wollen keineswegs die Bedeutung einer individuellen Disposition in Abrede stellen, und auch Fahr hat auf die Bedeutung individueller Schwankungen der verschiedenen Organismen wiederholt hingewiesen. In der Auffassung der individuellen Disposition weichen wir allerdings erheblich von Hübschmann ab. Hübschmann glaubt offenbar an die Möglichkeit, daß auf ein biologisch stets gleichartiges Gift, als das Hübschmann das Diphtherietoxin hier anzusprechen scheint, der Organismus bald mit einer Erkrankung der einen, bald der anderen Gewebskomponente antworten könne. Das widerspricht unseren anatomischen und biologischen Kenntnissen von der spezifischen Abstimmung bestimmter Giftwirkungen, während die Annahme verschiedener Gifte oder, wie ich es aufgefaßt wissen möchte, verschiedener Partialgifte mit unseren Anschauungen von den biologischen Wechselwirkung zwischen Gift und Organzellen und vor allem auch mit den Immunitätsverhältnissen bei Diphtherie im Einklang zu bringen wäre.

Fahr hat für die Individualisierung des Giftes zwei Möglichkeiten angenommen, und zwar entweder die Entstehung qualitativ verschiedener Gifte an der primären Bildungsstätte, oder die biologische Umwandlung eines bei der Bildung noch einheitlichen Giftes durch die Wechselwirkung mit den Körpersäften. Für das prinzipielle Verhalten des Giftes gegenüber den verschiedenen Zellarten wird der Bildungsmodus des Giftes irrelevant sein. Das Wesentlichste ist stets die Existenz spezifisch abgestimmter Partialgifte auf korrespondierende Zellgruppen, wenn anders die fraglichen Zellen einer Giftwirkung zugänglich sein sollen.

Die Bildung derartiger Partialgifte wird aber von den im einzelnen schwer übersehbaren Verhältnissen abhängen, und Fahr hat mit Recht darauf hingewiesen, daß es einen großen Unterschied bedeutet, ob der Diphtheriebazillus in einer stets gleichbleibenden Nährbouillon zur Giftproduktion gebracht wird, oder ob sich die Giftbildung auf dem lebenden menschlichen Substrat vollzieht, wo der Gehalt an Eiweißkörpern und deren Zerfallsprodukten, die Blutfülle des Gewebes, die Symbiose des Diphtheriebazillus mit anderen Bakterien und mancherlei andere Faktoren eine ausschlaggebende Rolle zu spielen vermögen. Mit dem Hinweis auf die erheblich schwankenden körperlichen Verhältnisse hat Fahr sich nicht nur nicht als Gegner einer individuellen Disposition bekannt, sondern vielmehr den Begriff der individuellen Disposition auf eine reellere Basis zu stellen sich bemüht.

Auch die verschiedenartige immunbiologische Reaktivität des Einzelorganismus und seiner Zellverbände fällt naturgemäß unter den Begriff der individuellen Disposition. Selbst bei Einwirkung gleichartiger Gifte antworten die einzelnen Organismen mit der Ausbildung quantitativ verschiedener Mengen von Immunstoffen, und dieser quantitative Unterschied in der Immunität tritt besonders unter dem Einfluß verschiedener Partialgifte in Erscheinung, zumal wenn diese Partialgifte bei den verschiedenen Individuen in wechselnder Menge zur Entwicklung gelangen. Naturgemäß wird es dabei zur Ausbildung verschiedener Immunitätsgrade gegenüber den einzelnen Partialgiften kommen, wie uns die künstlichen Immunisierungsversuche mit verschiedenen Antigenen ja immer wieder lehren, daß der tierische Organismus auf die gleichzeitige Einverleibung qualitativ verschiedener Antigene, auch bei der Wahrung absolut gleichartiger quantitativer Bedingungen, niemals mit gleicher Immunitätsstärke auf die einzelnen Antigene antwortet.

Praktisch werden wir auch sicher mit einer Wirkung qualitativ verschiedener Partialgifte rechnen müssen, da bei einer Einheitlichkeit des Giftes und speziell bei seiner Identität mit dem Reagenzglastoxin ein Versagen des Antitoxins recht unverständlich wäre, zumal wenn die Antitoxindarreichung unter optimalen Verhältnissen erfolgt. Die Verhältnisse im Tierexperiment und im Reagenzglasversuch lassen sich eben nicht ohne weiteres auf den Menschen übertragen, da wir die äußeren Bedingungen bei der menschlichen Diphtherie im Experiment, speziell das Wechselspiel zwischen dem angreifenden Mikroorganismus und dem abwehrenden menschlichen Organismus, das in jedem Einzelfall stark individualisiert, nur teilweise nachzuahmen vermögen. Wir vermögen durch unsere Serumtherapie nur einen Teil der Giftwirkungen passiv zu bannen, und von der aktiven immunisatorischen Fähigkeit des Einzelorganismus wird letzten Endes der Erfolg beim Einzelfall abhängig sein. Die heute geübte schematische Form der passiven Immunisierung wird angesichts der eben besprochenen, quantitativ und qualitativ unterschiedlichen Giftbildung wohl bei vielen Fällen einen wirklich durchgreifenden Erfolg von vornherein in Frage stellen, zumal in dem häufigen Auftreten sekundärer Mischinfektionen ein weiteres komplizierendes Moment für die Diphtherieinfektion liegt. Namentlich Streptokokkeninfektionen spielen häufig eine bedeutsame Rolle, wenn auch nach unseren intravitalen Blutuntersuchungen eine absolute Uebereinstimmung zwischen Leichenblutbefunden und intravitalen Verhältnissen, soweit die Bakteriämie in Frage kommt, nicht angenommen werden kann. Die Möglichkeit einer Schädigung des Organismus durch den Streptococcus ist auch ohne direkte Bakteriämie und selbst bei Außerachtlassung der Bronchopneumonie ausreichend. Jedenfalls haben Deussing und ich uns bei einschlägigen Untersuchungen davon überzeugen können, daß der Streptococcus auch ohne nachweisbare Bakteriämie, lediglich durch Absonderung seiner Stoffwechselprodukte, den Organismus schwer zu schädigen vermag. Auch Reiche und Fahr haben auf die Bedeutung dieser Stoffwechselprodukte für die Gestaltung des Krankheitsbildes hingewiesen, und Fahr hat sogar die Möglichkeit ins Auge gefaßt, daß die von ihm angenommene Modifikation des Diphtheriegiftes auch unter dem Einfluß derartiger sekundärer Giftwirkungen zustande kommen könnte.

Auch tierexperimentelle Studien scheinen im Sinne einer wechselseitigen Beeinflussung der beiden Erreger, sei es in Gestalt einer Virulenzsteigerung oder selbst einer durchgreifenden Aenderung der biologischen Wirkungsweise ihrer Stoffwechselprodukte, zu sprechen, wenn auch zwingende Beweise für einen derartigen Einfluß der Symbiose zwischen Diphtheriebazillus und seinem häufigsten Begleiter, dem Streptococcus, nicht vorhanden sind. Namentlich fehlt uns jegliche Analogie, daß aus einer Kombination der beiden funktionell verschiedenen Toxine ein drittes Gift mit völlig neuen biologischen Eigenschaften entstehen könnte.

Ein Einfluß der kombinierten Wirkung beider Toxine auf die Gestaltung des Krankheitsbildes, namentlich auf die Organveränderungen, wird sich wohl nicht in Abrede stellen lassen, nur an eine direkte Einwirkung der Symbiose auf das Diphtherietoxin als solches kann ich nicht glauben. Die Bedeutung der kombinierten Giftwirkung liegt wohl in der wesentlich stärkeren Schädigung des Gesamtorganismus und demzufolge der Organzellen, welche sich wohl der Wirkung eines Einzelgiftes in den meisten Fällen mit Erfolg zu erwehren vermocht hätten, einer Summation von Giftwirkung schließlich aber erliegen müssen. Bei solch kombinierten Giftwirkungen wird es dann oftmals nicht leicht sein, zu entscheiden, welche anatomischen Läsionen auf Kosten der einen oder der anderen Giftwirkung zu setzen sind.

Meine bisherigen Ausführungen hatten zur Voraussetzung, daß die bei tödlich verlaufenen Diphtherieinfektionen bestehenden Organveränderungen einer reinen Toxinwirkung entspringen, eine Anschauung, die keineswegs von allen Autoren vorbehaltlos geteilt wird, namentlich nicht von solchen Forschern, welche auch bei der Diphtherie der bakteriellen Infektion eine größere Bedeutung beigelegt wissen wollen. Angesichts der oben besprochenen Leichenblut- und Leichenorganbefunde hat sich ja bei vielen Forschern die Auffassung von der Häufigkeit und Regelmäßigkeit intravitaler Bakteriämien mit Diphtheriebazillen geradezu zur fixen Idee verdichtet, und es ist wiederholt die Frage aufgeworfen worden, ob eine derartige Bakteriämie nicht doch auf den Krankheitsverlauf erschwerend und auf die Art der Organerkrankungen bestimmend einwirken könne.

Daß Bakteriämien mit Diphtheriebazillen eine Erschwerung des Krankheitsbildes bedingen können, beweisen ja jene seltenen Fälle von ulzeröser Endokarditis, wie sie E. Fränkel, Schottmüller, Roosen-Runge und Howard beschrieben haben. Doch handelte es sich hier um Beobachtungen von solch exorbitanter Seltenheit, daß es fast müßig erscheint, daraus allgemeine Schlüsse für die Pathogenese der Organveränderungen zu ziehen. Es handelt sich zudem bei den Bakteriämien meist um ganz vorübergehende Erscheinungen, die allerdings nur bei sehr schweren Fällen angetroffen werden, ohne aber an sich eine absolut ungünstige Prognose zu bedingen. Nach experimentellen Feststellungen kann die hämatogene Verteilung der Diphtheriebazillen im tierischen Organismus allerdings zu einer Virulenzsteigerung dieser Mikroben führen, aber beim Menschen liegen analoge Beobachtungen nicht nur nicht vor, sondern die einschlägigen Prüfungen der aus dem Blute gezüchteten Stämme haben bei diesen gar oftmals ein schwaches Giftbildungsvermögen und eine ganz geringe oder auch völlig fehlende Tierpathogenität erkennen lassen.

Die Erfahrung hat uns gelehrt, daß die direkte Anwesenheit der Diphtheriebazillen in den Organen für die Entstehung der bekannten Veränderungen nicht erforderlich ist, daß diese sich vielmehr als Ausfluß einer reinen Toxinwirkung finden können. Das haben Bulloch und Schmorl für die Drüsenveränderungen betont, und auch Kutscher hat darauf hingewiesen und den saprophytischen Charakter der in den Organen angetroffenen Diphtheriebazillen besonders unterstrichen. Auch ich selbst glaube auf Grund des vorliegenden Tatsachenmaterials nicht an eine wesentliche pathogenetische Bedeutung der gelegentlich ins Blut gelangenden Diphtheriebazillen. Ich halte die Diphtherieinfektion, trotz der gelegentlich auftretenden Bakteriämien, auch heute noch für eine reine Intoxikationskrankheit mit fast ausschließlich lokaler Entwicklung der Erreger und sehe bislang keinen Grund, der Diphtherieinfektion die Sonderstellung abzuerkennen, welche ihr seinerzeit von Loeffler gegeben wurde.

Hinsichtlich der serotherapeutischen Bestrebungen werden auch künftighin unsere experimentellen Studien einer weiteren Klärung der Biologie des Diphtherietoxins und seiner erfolgreichen Bekämpfung gewidmet sein müssen. Ob uns dabei der in letzter Zeit leider oftmals mit so geringem Erfolg betretene Weg der passiven Immunisierung oder derjenige einer aktiven Schutzimpfung, wie er von Behring in seinen letzten Lebensjahren vorgeschwebt hatte, zum Ziele führen wird, muß die Zukunft entscheiden.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über die Wirksamkeit einiger chemischer Desinfektionsmittel auf Tetanussporen[1]).

[Aus der Serumabteilung der chemischen Fabrik E. Merck in Darmstadt (Leiter: Dr. Wilhelm Eichholz).]

Von Dr. med. vet. **Theod. Moll,**

A. Allgemeiner Teil.

1. Einleitung.

Zu Anfang der achtziger Jahre des vorigen Jahrhunderts hat Robert Koch in seiner grundlegenden Arbeit über Desinfektion die erste exakte wissenschaftliche Methode zur Prüfung von Desinfektionsmitteln auf ihren Desinfektionswert gegeben.

Seine zur Prüfung des Desinfektionswertes neu eingeführte sogenannte Seidenfadenmethode beruht auf folgendem Prinzip: Kurze, trockene, sterile Seidenfäden werden in eine Bakterien- oder Sporenaufschwemmung gelegt und, nachdem sie die Flüssigkeit aufgesogen haben, rasch getrocknet. Diese so bereiteten Fäden enthalten dann in Massen Bakterien oder Sporen. Bei seinen Untersuchungen verwandte Koch Milzbrandsporen. Er legte bei der Prüfung eines Desinfektionsmittels derartige Milzbrandsporenseidenfäden eine bestimmte Zeit in das Desinfektionsmittel, entfernte sie nach bestimmter Einwirkungszeit rasch daraus und brachte sie sodann in einen flüssigen Nährboden. Um die durch den Seidenfaden in den Nährboden mitübertragene Menge des Desinfektionsmittels zu verdünnen und die dadurch im Nährboden bedingte Entwicklungshemmung herabzudrücken, wählte Koch die Nährbodenmenge möglichst groß, oder er suchte in zweifelhaften Fällen durch Waschen der Seidenfäden mit sterilem Wasser, absolutem Alkohol, oder durch Impfung auf Versuchstiere diese Fehlerquelle auszuschalten. Damit hat Koch also selbst schon auf eine Fehlerquelle dieser Methode hingewiesen.

Spätere Untersuchungen haben nun gezeigt, daß die Seidenfäden gewisse chemische Mittel in spezifischer Weise adsorbieren, sich damit anfärben. Die Einwirkungszeit des Desinfektionsmittels läßt sich daher nicht scharf abgrenzen. Es wird immer eine gewisse Menge von Desinfektionsflüssigkeit im Seidenfaden zurückbleiben, die bei der Impfung auf den Nährboden entwicklungshemmend wirkt.

Die Literatur darüber ist von Laubenheimer in der Einleitung zu seiner Arbeit: „Phenol und seine Derivate als Desinfektionsmittel" zusammengestellt. Ferner fand ich in einem Manuskript von Eichholz „Ueber chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika", das durch die Kriegsverhältnisse noch nicht zur Veröffentlichung kommen konnte, und das Herr Dr. Eichholz mir in liebenswürdiger Weise zur Verfügung stellte, einen großen Teil der in Betracht kommenden Literatur zusammengestellt und verarbeitet.

An Versuchen, durch Verbesserung und Aenderung der Prüfungsmethoden einwandsfreiere Resultate zu erhalten, hat es nicht gefehlt. Das Ziel all dieser Methoden war, die Testkeime nach der Einwirkung dem Desinfektionsmittel rasch und sicher zu entziehen und möglichst jede Mitübertragung von Desinfektionsflüssigkeit auf den Nährboden, die dann entwicklungshemmend auf die Testkeime wirkt, auszuschalten. Die wichtigsten der Methoden, die bei der Prüfung von Desinfektionsmitteln auf ihren Desinfektionswert zur Anwendung kommen, hat Eichholz in ihren verbesserten Ausführungen eingehend beschrieben und folgendermaßen eingeteilt in:

---

1) Wegen der herrschenden Papierknappheit mußte die Arbeit wesentlich gekürzt werden. Eine ausführliche Angabe der Literatur, der gesamten Versuchstechnik und der eingehenden Versuchstabellen findet sich in der unter gleichem Titel erschienenen Dissertation, Jena 1920.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

1) **Kochs** Seidenfadenmethode, 2) **Krönig** und **Pauls** Granatenmethode, 3) Suspensionsmethode, 4) **Bechhold** und **Ehrlichs** Agarmethode.

Die beiden ersten Methoden finden hauptsächlich Anwendung bei Bakterien, die das Austrocknen vertragen, während für lebensfeuchte Bakterien die 3. Methode gute Dienste leistet. Die 4. Methode soll wegen ihrer Einfachheit hauptsächlich zu orientierenden Versuchen herangezogen werden.

Die von **Krönig** und **Paul** angegebene Granatenmethode bietet nach der Anschauung von **Eichholz** und **Laubenheimer** mit die größte Gewähr, gute und einwandsfreie Resultate zu liefern, da mit ihr die Bakterien möglichst isoliert dem Desinfektionsmittel ausgesetzt werden, seiner Einwirkung nach Ablauf der Einwirkungszeit rasch entzogen und entwicklungshemmende Einflüsse durch Uebertragung von Desinfektionslösung auf den Nährboden ausgeschaltet werden können. Bei der impermeablen Eigenschaft des Granates kann man von diesem das anhaftende Desinfiziens durch Waschen mit sterilem Wasser oder durch Chemikalien rasch und sicher unschädlich machen.

Laubenheimer zeigte, daß selbst stark adsorbierende Mittel, wie Sublimat, restlos von den Granaten entfernt werden können, wenn man sie nach der von ihm angegebenen Weise mit destilliertem Wasser wäscht.

Geppert wies als erster schon vorher darauf hin, wie wichtig es ist, daß bei allen derartigen Prüfungen das Desinfektionsmittel nach der Einwirkungszeit durch chemische Mittel unschädlich gemacht wird.

Nach dem von **Eichholz** vertretenen Standpunkt ist das Waschen mit Wasser der Zersetzung durch chemische Mittel vorzuziehen, da die chemische Reinigungsmethode meist über das Ziel hinausschießt. Wenn es auch zweifellos richtig ist, die den Objekten anhaftenden Desinfektionslösungen quantitativ zu entfernen, so ist es aber nicht nötig und nicht richtig, die schon in das Bakterieninnere eingedrungene Desinfektionslösung, die entweder in lockerer reversibler oder adsorbierter Form an das Protoplasma gebunden ist, zu entfernen.

Meinen experimentellen Untersuchungen habe ich die Granatenmethode ebenfalls zugrunde gelegt und möchte deshalb näher darauf eingehen:

Das Prinzip der Granatenmethode ist in der verbesserten Form, wie sie **Eichholz** zusammengestellt hat, folgendes: „Böhmische Tariergranaten, von möglichst gleicher Korngröße, die durch Behandlung mit konzentrierter Salzsäure in Wärme, sowie durch sorgfältiges Auswaschen mit Wasser von jeglichen anhaftenden Fremdkörpern gereinigt und durch einhalbstündiges Erhitzen auf 180° sterilisiert sind, werden in eine wässerige Aufschwemmung der Testbakterien, die durch vorherige Filtration von gröberen Partikelchen befreit ist, gebracht und einige Zeit darin geschüttelt. Nachdem man den Ueberschuß der Flüssigkeit abgegossen hat, kommen die feuchten Granaten zur Entfernung der anhängenden Flüssigkeit in eine Glasdoppelschale, deren Boden mit einer dicken Lage von sterilem Filtrierpapier bedeckt ist. Danach werden die Granaten in einem von **Krönig** und **Paul** näher beschriebenen Trockenkasten getrocknet.

Die auf diese Weise zubereiteten Testgranaten halten pro Stück eine ziemlich gleichmäßige Anzahl von Bakterien auf ihrer Oberfläche fixiert. Durch starkes Schütteln mit Wasser gelingt es, diese restlos von den Granaten zu entfernen und mit Hilfe der Plattenmethode quantitativ zu bestimmen.

Für Desinfektionsversuche, die zweckmäßig nach einem vorher aufzustellenden Zeitplan, in dem genau jede vorzunehmende Manipulation festgelegt ist, vorgenommen werden, wird eine bestimmte Anzahl von Testgranaten in die Desinfektionsflüssigkeit von bestimmter Temperatur gebracht. Nach bestimmter Zeit wird eine bestimmte Zahl von Granaten herausgenommen und das anhaftende Desinfiziens mit destilliertem Wasser oder durch Chemikalien unschädlich gemacht. In Reagenzgläschen wird der so behandelte Granat mit etwas Wasser gründlich geschüttelt, wodurch die Keime sich von den Granaten loslösen. Diese Bakterienaufschwemmung wird sodann auf verflüssigtes und auf 45° abgekühltes Agar gebracht, gut gemischt, in Petri-Schalen gegossen und nach bestimmten Zeiten die bei bestimmter Temperatur gewachsenen Kolonien festgestellt.“

Früher verwendete man meistens bei den angestellten Desinfektionsversuchen nur die von Koch in die Desinfektionstechnik eingeführten Milzbrandsporen. Koch ging damals von dem Gedanken aus, daß ein in der Praxis brauchbares Desinfiziens die resistentesten Krankheitserreger, für die man die Milzbrandsporen hielt, abtöten muß. Von einer großen Reihe von Infektionskrankheiten kannte man damals die Erreger noch nicht und glaubte, daß unter diesen sich ebenfalls noch sporenbildende Formen finden würden. Heute weiß man jedoch, daß die Erreger der meisten menschlichen Infektionskrankheiten keine sporenbildenden Keime sind. Aus diesem Grunde haben nach dem Standpunkt von Laubenheimer und anderen Autoren die Milzbrandsporen als Testobjekte bei der Prüfung von Desinfektionsmitteln auf ihre Wirksamkeit an Bedeutung verloren, denn es gibt nur wenig chemische Substanzen, die in praktisch anwendbaren Konzentrationen stärkere bakterizide Wirkung auf Sporen ausüben, aber trotzdem als Desinfektionsmittel praktisch gute Dienste leisten können. Heute wählt man als Testobjekte vorzugsweise Staphylokokken, die als Krankheitserreger eine große Rolle spielen und unter den nicht sporenbildenden Formen die widerstandsfähigsten sind.

Durch den Krieg ist nun durch das vermehrte Auftreten von Starrkrampf diese Krankheit sehr in den Vordergrund des Interesses gerückt und dabei auch die Frage, welches Desinfektionsmittel am besten auf Tetanussporen wirkt, aufgeworfen worden. Von einer großen Zahl von jetzt sehr beliebten und fast am meisten gebrauchten Desinfektionsmitteln, wie Wasserstoffsuperoxyd, Jod- und Kresolpräparaten, kannte man die Wirkung auf Tetanussporen nicht. Diese Lücke unserer Kenntnis der Wirkung von Desinfektionsmitteln auf Tetanussporen hat sich im Kriege sehr fühlbar gemacht. Ein Blick in die während des Krieges erschienene umfangreiche Literatur über die Therapie des Starrkrampfes beweist, daß die einen Autoren ganz falsche, meist zu optimistische Vorstellungen von der Wirksamkeit der üblichen Desinfektionsmittel auf Tetanussporen haben und die anderen nach einem geeigneten Desinfektionsmittel suchen, welches für die Behandlung von mit Starrkrampf infizierten Wunden am wirksamsten ist: Czerny (Jodtrichlorid 0,1—0,5 Proz., essigsaure Tonerde, Kaliumpermanganat, Wasserstoffsuperoxyd, Perubalsam, Jodoform, Sublimat), Kocher (Alkohol, Jodtinktur), Ritter (Perubalsam), Behring (Jodoform, Jodtrichloridlösung), Weintraud (Wasserstoffsuperoxydpräparate, Ortizon), Riehl (Chlorkalk mit Bolus alba 1:10), Voelker (Acidum carbolicum liquefactum), Häberlein (Jodtinktur), Schriewer (35-proz. Formalin), Mühsam (Wasserstoffsuperoxyd, Perhydrit), Siebolt (Wasserstoffsuperoxyd, Ortizon).

Diese Mittel, von denen man eine Desinfektionswirkung auf die Tetanuskeime vermutete, wurden entweder aus der praktischen Erfahrung heraus, oder indem man die Wirkung, die sie auf andere Testobjekte ausübten, auch für die Tetanuskeime glaubte annehmen zu können, vorgeschlagen. Ob nun der Wert, den man sich von der Desinfektionskraft verschiedener dieser Mittel auf Tetanuskeime verspricht, tatsächlich besteht, bedarf einer näheren Nachprüfung. Aus diesen praktischen Gesichtspunkten heraus ist das Thema zu der vorliegenden Arbeit entstanden.

Ueber die Einwirkung von chemischen Desinfektionsmitteln auf Tetanussporen finden sich die ersten Angaben, die schon mehrere Jahre zurückliegen, bei Kitasato und Sormani. Die widersprechenden Resultate der Sormanischen Untersuchungen haben weiter Tizzoni und Cattani veranlaßt, diese Frage einer eingehenden Prüfung zu unterziehen.

Kitasato, der nur beiläufig die Einwirkung einiger chemischer Mittel auf Tetanussporen erwähnt, gibt keine nähere Beschreibung, auf welche Weise, ob durch Tierversuch oder durch Kulturversuch und in welcher Form er sein Sporenmaterial untersucht hat, er zu seinen Resultaten gekommen ist.

Sormani hat sich bei der Prüfung der Wirkung von Desinfektionsmitteln einer Mischkultur von Tetanusbazillen und Clostridium foetidum bedient, die er an aufgefaserten Seidenstreifen antrocknen ließ. Durch Kultur- und Tierversuch hat er dann die Wirkung der Desinfektionslösungen auf seine Keime festgestellt.

Tizzoni und Cattani stellten ihre Testobjekte folgendermaßen her:

Sterile Seidenstreifchen, die auf $^3/_4$ ihrer Länge aufgefasert waren, wurden in eine alte Reinkultur des Tetanusbazillus in Kaninchenblut oder Gelatine getaucht und in der Wärmekammer bei 37° und zuletzt über Schwefelsäure getrocknet. Die so zubereiteten Streifchen wurden in die desinfizierende Lösung getaucht und dann durch Eintauchen in 2 oder 3 Röhrchen sterilen Wassers, wo sie 6—7 Std. blieben, von der Desinfektionsflüssigkeit befreit. Zuletzt wurden die Streifchen Tieren unter die Haut gebracht, oder bei 37° unter Wasserstoff in Zucker-Pepton-Bouillon zur Kultur angestellt.

Ob Tizzoni und Cattani sämtliche angestellten Versuche mit dem gleichen Sporenmaterial durchgeführt haben, läßt sich aus der Arbeit nicht ersehen. Ebenso fehlt zu vergleichenden Betrachtungen die Angabe über den Grad der Resistenz der benutzten Testsporen.

In der vorliegenden Arbeit habe ich versucht, auf zweifache Weise, durch den Kulturversuch mit Hilfe der Granatenmethode und durch Impfung von Tetanussporenseidenfäden auf Tiere, die Frage über die Wirkung der wichtigsten Desinfektionsmittel auf Tetanussporen zu klären. Es kam mir dabei in der Hauptsache darauf an, festzustellen, welches Mittel in einem für praktische Desinfektionszwecke noch in Betracht kommendem Zeitraum imstande ist, die Tetanussporen vollkommen abzutöten. Für eine große Reihe der untersuchten Desinfektionsmittel habe ich die Wirkung meist über diesen Zeitraum hinaus weiter verfolgt, um damit ein Urteil zu bekommen, ob das Mittel überhaupt einen schädigenden Einfluß auf die Sporen ausübt.

B. Experimenteller Teil.

Die bei beiden Versuchsarten benutzten Testsporen züchtete ich unter Wasserstoff in Bouillonkultur mit einem Tetanusstamm des Instituts für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M., der die Bezeichnung Tetanus-Trockensporen vom 27. Aug. 1918 hatte.

In einem Kolben von 2 l Inhalt wurden 1000 ccm neutrale Bouillon, die aus 500 g gemahlenem Rindfleisch und 1 l Wasser, einem Zusatz von 1 Proz. Pepton und 0,5 Proz. Kochsalz hergestellt war, mit den Trockensporen beimpft, Wasserstoff durchgeleitet und der Kolben im Brutschrank zum Anwachsen gebracht. Nach 2 Tagen war die Bouillon getrübt, ein Zeichen, daß Wachstum eingetreten war. Durch mikroskopische Untersuchung verfolgte ich das Wachstum bis zum vollen Ausreifen der Sporen. Am 11. Tage wurde die Bouillon zentrifugiert und der erhaltene Bodenschlamm mit 60—70 ccm steriler physiol. Kochsalzlösung aufgeschwemmt und wieder zentrifugiert. Diese Waschung nahm ich 8mal vor, um jegliche Bouillonbestandteile von den Sporen zu entfernen. Nach dem Waschen wurden die Sporen mit 50 ccm sterilem, destillierten Wasser in der Schüttelmaschine aufgeschüttelt und durch ein steriles Wattefilter filtriert.

Die für den Kulturversuch benutzten Granaten hatte ich, bevor sie mit dem Sporenmaterial behaftet wurden, nach der von Laubenheimer gegebenen Vorschrift vorbehandelt.

Nach dem Aussortieren zu ungefähr gleichen Größen wurden die Granaten 2mal mit verdünnter Salzsäure 1:3 in einem Erlenmeyer-Kölbchen gekocht, sodann darin mit destilliertem Wasser gründlich abgespült. Hierauf habe ich sie mit absol. Alkohol, dann mit Aether und wieder mit absol. Alkohol gründlich geschüttelt und nochmals mit destilliertem Wasser nachgespült. Im Hitzkasten wurden die Granaten dann sterilisiert und steril aufbewahrt.

Die so vorbehandelten Granaten brachte ich bei der Zurichtung zu Testobjekten in eine Petri-Schale mit der Sporenaufschwemmung. Nach öfterem Umrühren wurden sie mit dem Platinspatel sorgfältig auseinandergebreitet, um das Aneinanderkleben zu vermeiden, und kamen zum Trocknen in einen mit Schwefelsäure beschickten Hempelschen Vakuumexsikkator. Nachdem die Granaten vollkommen trocken waren, wurden sie von ihrer Unterlage losgelöst und in einem Pulvergläschen, das mit einem Wattepfropf verschlossen war, während der Versuchsdauer im Chlorkalzium-Exsikkator dunkel aufbewahrt.

Für den Tierversuch dienten als Testobjekte kurze, 1,5 cm lange Seidenfäden, an welche die Testsporen angetrocknet waren. Vor dem Vorbereiten dieser Testobjekte zum Tierversuch war es von großer Wichtigkeit, die Sporen von dem ihnen anhaftenden Gift zu befreien, um nicht bei den Impfversuchen durch die eintretende starke Giftwirkung des Tetanusgiftes zu einem falschen Resultat zu kommen. Drei Wege standen mir offen, dieses Ziel zu erreichen: öfteres Auswaschen, Behandlung mit Antitoxin und Erhitzung der Sporen.

Auf Grund eingehender in dieser Richtung hin angestellter Versuche wählte ich die 5 Min. lange Erhitzung auf 65° für die zur Zubereitung der Testseidenfäden dienende Sporenaufschwemmung. Eine Schädigung des Sporenmaterials war durch diese Erhitzung nicht eingetreten, wie ich durch Versuche feststellen konnte.

Nachdem die sterilen Seidenfäden mit dem in dieser Weise zubereiteten Testsporenmaterial sich gründlich vollgesogen hatten, wurden sie auseinandergebreitet und in einem Hempelschen Vakuumexsikkator getrocknet. Sodann bewahrte ich die Seidenfäden in der gleichen Weise wie die Granaten auf.

Die so hergestellten Testobjekte — Granaten wie Seidenfäden — waren mit einer Unsumme von Sporen von sehr beträchtlicher Resistenz behaftet. Ehe ich nun an die Prüfung der Resistenz dieses Testmaterials gegen chemische Desinfektionsmittel ging, ermittelte ich ihre Widerstandsfähigkeit gegen Hitze. Nach meinen Erfahrungen ist die Hitzebeständigkeit der Tetanussporen je nach der Art der Züchtung, wahrscheinlich auch nach der Herkunft des verwendeten Stammaterials und dem Alter der Sporen, sehr wechselnd. Aus der Nichtbeachtung dieser Tatsache und aus der Verschiedenheit der Prüfungsmethoden erklären sich meinem Dafürhalten nach zwanglos die in der Literatur vorhandenen Widersprüche über die Wirksamkeit chemischer Agenzien auf Tetanussporen. Alle diesbezüglichen Angaben haben nur dann praktischen und wissenschaftlichen Wert, wenn die absolute Hitzeresistenz des verwendeten Testmaterials gewissermaßen als Standard mitgeteilt wird.

Die Hitzeresistenz ermittelte ich folgendermaßen:

In sterilem, mit 0,5 ccm physiol. Kochsalzlösung gefülltem Reagenzgläschen wurden die Granaten in das siedende, zugedeckte Wasserbad gestellt und nach Ablauf der Erhitzungszeit in Eiswasser rasch abgekühlt. Sodann wurden 4—5 ccm verflüssigtes und auf 45° abgekühltes Nähragar eingegossen, das nach dem Erstarren noch mit 4—5 ccm Nähragar überschichtet wurde. In der entsprechenden Weise gestaltete sich auch bei den Tetanussporenseidenfäden die Prüfung der Hitzeresistenz.

Aus den angestellten Versuchen ergab sich, daß im Kulturversuch die Sporen meiner Testobjekte erst nach 70 Min. bei Erhitzung im kochenden, zugedeckten Wasserbad vollkommen abgetötet waren. Die Hitzeresistenz ist während der Versuchsdauer ziemlich konstant geblieben und hat erst gegen Ende der Versuchszeit eine Abnahme gezeigt.

Im Tierversuch waren die Sporen bei 60 Min. langem Erhitzen schon sichtlich in ihrer Virulenz abgeschwächt. Eine Maus, die mit einem derart erhitzten Sporenseidenfaden geimpft wurde, starb nach 14-tägiger Krankheitsdauer an Tetanus, während eine 2. Maus nur leicht erkrankte und wieder gesund wurde. Bei dem nach 3 Wochen vorgenommenen Erhitzungsversuch erkrankte die mit einem 60 Min. lang erhitzten Seidenfaden geimpfte Maus nicht an Starrkrampf.

Wie die Gegenüberstellung des Kultur- und Tierversuchs zeigte, scheinen die Sporen durch die langdauernde Erhitzung auf 100° wohl ihre Virulenz für die Maus, aber noch nicht ihre Lebensfähigkeit verloren zu haben. Bei neuer Züchtung im künstlichen Nährboden zeigten sich derartige durch längere Erhitzung geschwächte Sporen wieder hochvirulent für die Maus. Spritzte ich 0,5 ccm verflüssigtes und abgekühltes Agar, in dem die 60 Min. auf 100° erhitzten Sporen gewaschen waren, einer Maus ein, so trat schon am 2. Tag tödlich verlaufender Starrkrampf ein, trotzdem die Sporen bei der Verflüssigung des Agars auf annähernd 100° erhitzt wurden.

Wie groß der Unterschied der Hitzeresistenz der Tetanussporen ist, die auf verschiedene Art gezüchtet wurden, konnte ich aus folgenden Versuchen ersehen. Die mit a bezeichneten, an Granaten angetrockneten Sporen waren in einer 2-proz. Peptonfleischwasserbouillon aus demselben Stamm und in derselben Zeit wie meine Testsporen, die in einer 1-proz. Peptonfleischwasserbouillon gewachsen waren, gezüchtet. Die Waschung der Sporen, sowie die Zubereitung und Herrichtung der Granaten hatte ich in der gleichen Weise wie bei meinen Testobjekten vorgenommen.

Die mit b bezeichneten, an Granaten angetrockneten Sporen, die von dem gleichen Stamm wie meine Testsporen abstammten, habe ich in 2-proz. Peptonfleischwasserbouillon 3 Tage lang im Brutschrank anwachsen und dann bei Zimmertemperatur und Zutritt von Sauerstoff zu Sporen ausreifen lassen.

Aus dem Verlauf der Versuche ging hervor, daß die Art der Züchtung von wesentlichem Einfluß auf die Resistenz der Tetanussporen ist. Eine weitere Prüfung der Hitzeresistenz eines im Laboratorium vorgefundenen und an Seidenfäden angetrockneten Sporenmaterials, das vor ungefähr 4 Jahren vorher hergestellt war, ergab, daß schon 30 Min. lange Erhitzung auf 80° genügte, um die Sporen abzutöten. Auch gegen chemische Agenzien hatten diese Sporen eine bedeutend geringere Widerstandsfähigkeit, als die von mir untersuchten Testobjekte.

Ein sehr schönes und einfaches Kulturverfahren von Tetanussporen hat Schneider angegeben und bei seinen Untersuchungen angewendet. Schneider benutzte als Nährboden schräg erstarrtes Pferdeserum, das er nach dem Beimpfen mit Agar überschichtete. Diese Art des anaëroben Wachstums der Tetanussporen suchte ich noch zu verbessern, denn es war gerade für die von mir anzustellenden Kulturversuche von großer Wichtigkeit, daß der Nährboden möglichst durchsichtig war und das Aufgehen von einzelnen Kolonien deutlich erkennen ließ.

Aus meinen zu diesem Zwecke angestellten Versuchen ergab sich, daß sowohl das Pferdeserum wie dessen Salze und auch der oft empfohlene Traubenzuckerzusatz entbehrt werden können, und daß der praktischste und einfachste Nährboden für meine Zwecke das gewöhnliche Nähragar in hoher Schicht ist. Dieser Nährboden gewährleistet ein rasches Aufgehen sämtlicher verimpfter Sporen, auch dann, wenn sie durch Desinfektionsmittel schon weitgehend geschädigt sind, und gestattet infolge seiner Durchsichtigkeit eine gute Beobachtung.

Die Zusammensetzung und Herstellung des benutzten Nähragars war folgende: 1 Pfd. Pferdefleisch wurde mit 2 l Wasser 2 Std. lang bei 110° gekocht und sodann filtriert. Zu dem gewonnenen Fleischwasser wurden 0,5 Proz. Kochsalz und 1 Proz.

Pepton (Witte) hinzugefügt. Die Lösung wurde sodann mit Normal-Natronlauge so weit neutralisiert, daß man zu 1000 ccm Bouillon noch 10 ccm Normal-Natronlauge hätte zusetzen müssen, um den Phenolphtaleinrotpunkt vollkommen zu erreichen.

Zu dem so eingestellten Peptonfleischwasser wurde 2,5 Proz. pulverisiertes Agar-Agar beigefügt, das Ganze dann $^1/_2$ Std. auf 100° vorgewärmt und daran anschließend $^1/_2$ Std. auf 110° erhitzt und filtriert. Das Nähragar wurde sodann in Kölbchen abgefüllt, die an 2 aufeinanderfolgenden Tagen je 1 Std. bei 110° sterilisiert wurden.

Die bei den Versuchen gehandhabte Technik der Impfung war folgende:

Der dem Desinfektionsmittel ausgesetzte Granat kam nach der noch näher zu beschreibenden Waschung (mechanisch oder chemischen Entfernung des Desinfektionsmittels) in ein Reagenzgläschen mit 0,5 ccm steriler physiol. Kochsalzlösung und wurde darin 3 Min. mit der Hand gründlich geschüttelt, damit die Sporen sich von dem Granaten loslösten. Nun wurde unter Drehung des Röhrchens 5—6 ccm verflüssigtes und auf 42°—45° abgekühltes Nähragar in das Röhrchen unter sterilen Kautelen eingegossen. Nach dem Erstarren wurden weitere 5—6 ccm Nähragar aufgeschichtet, so daß die Kultur vor der Einwirkung des Luftsauerstoffes sicher abgeschlossen war.

Die beimpften Kulturröhrchen wurden bei allen angestellten Versuchen im Brutschrank zum Wachstum gebracht, das am 2. Tage durch die aufgehenden zahllosen Kolonien von gleicher Größe deutlich sichtbar wurde. Die am 3. Tage in Agar auftretende Gasblasenbildung und der deutlich wahrnehmbare für Tetanus höchst charakteristische Geruch machte die Beurteilung des Wachstums der Kultur und der Identität der aufgegangenen Kolonien leicht. Trotzdem überzeugte ich mich durch mikroskopische Untersuchung stets von dem reichen Vorhandensein von Trommelschlägelformen, so daß eine Täuschung durch beim Arbeiten hineingelangte fremde Bakterien vollkommen ausgeschlossen war.

Waren die verimpften Sporen einer Desinfektionsflüssigkeit ausgesetzt, so war das Wachstum, besonders an den Grenzwerten, die dem Zeitpunkt der vollständigen Abtötung sich näherten, sehr verändert und verschiedenartig. In diesen Fällen entwickelten sich entweder erst nur einzelne Kolonien, die nach 3—5 Tagen an Zahl zunahmen, oder die sehr verspätet aufgehenden Kolonien waren winzig klein, so daß oft nur Trübungen der gesamten Agarmasse, oder mehr schleierartige Trübungen mit Bläschenbildung auf stattgefundenes Wachstum hindeuteten.

In der Mehrzahl der Fälle hatten sich sämtliche keimfähigen Sporen bis zum 7. Tage zu deutlich sichtbaren Kolonien entwickelt. In einigen Fällen trat erst nach dem 7. Tage, sogar nach 3 Wochen noch Wachstum ein. Diese Ungleichheiten im Wachstum der Kulturen, sowie das oft langsam fortschreitende und das sehr verzögert einsetzende Wachstum führe ich auf die durch die Desinfektionswirkung mehr oder weniger stark eingetretenen Vergiftungsvorgänge innerhalb der Sporen zurück.

Um sicher zu sein, daß bei den besonders an den Grenzwerten gewachsenen wenigen Kolonien oder den vorhandenen schleierartigen Trübungen das Wachstum auch wirklich von Tetanuskeimen herrührte, habe ich in allen diesen Fällen die Identität durch Nachweis von Trommelschlägelformen gesichert. Zu diesem Zwecke habe ich entweder durch Eingehen mit einer langen, glühenden Platinöse, oder nach vorherigem Erwärmen und Ausschütten der Agarmasse eine Probe entnommen und mikroskopisch untersucht. Auffallend war bei diesen Untersuchungen, daß bei den Grenzwerten neben den Sporenformen mehr Stäbchenformen von ganz verschiedener Größe vorkamen, während bei normalem, üppigem makroskopischen Wachstum nach der am 7. Tage vorgenommenen mikroskopischen Untersuchung fast nur Sporenformen nachzuweisen waren. In allen Fällen jedoch, in denen ich makroskopisch Wachstum feststellen konnte, fehlte mikroskopisch die Trommelschlägelform nie.

Die Versuchstechnik, unter der ich die Granaten den Desinfektionslösungen aussetzte, war folgende:

Braune, sterile, 2 g-Fläschchen mit eingeschliffenem Glasstopfen wurden bei Zimmertemperatur mit der Desinfektionslösung gefüllt und in jedes ein Granat mit ausgeglühter Pinzette hineingeworfen. Der Granat wurde sofort hin und herbewegt, um die Entstehung der an den trockenen Granaten öfter auftretenden Luftbläschen zu verhindern. Nach Ablauf der Einwirkungszeit wurde der Granat mit einer ausgeglühten Pinzette erfaßt und der von Laubenheimer als bewährt befundenen Waschmethode in etwas veränderter Form unterzogen. Abgesehen von Abweichungen bei einzelnen Desinfektionsmitteln, worauf ich bei den einzelnen Kapiteln näher hinweisen werde, war die Waschung durchweg folgende: Der Granat wurde in einem Pulvergläschen mit 40 ccm sterilem destill. Wasser abgespült, sodann in ein 2. steriles Pulverfläschchen mit 40 ccm steril. destill. Wasser geworfen, worin er unter öfterem Bewegen des Fläschchens 5 Min. verblieb. Darauf kam der Granat in ein 3. Fläschchen mit steril. destill. Wasser, blieb darin unter wiederholtem Bewegen 10 Min. und wurde dann nach der oben beschriebenen Art verimpft.

Die Impftechnik der Seidenfäden auf weiße Mäuse war folgende:

Nachdem die Seidenfäden in der gleichen Weise wie die Granaten dem Desinfizienz ausgesetzt und gewaschen waren, wurden sie am linken Hinterschenkel mit Hilfe einer sogenannten Mooijschennadel unter die Haut geschoben. Ein Herausfallen des Fadens war bei der kleinen, durch den Einstich der Nadel entstandenen Wundöffnung nicht möglich, so daß ein Verschließen der Wunde nicht stattzufinden brauchte.

C. Spezieller Teil.

I. Alkohole.

1. Alkohol.

Der Aethylalkohol, kurz als Alkohol bezeichnet, gehört zu den wichtigsten und unentbehrlichsten Desinfektionsmitteln.

Die bakterizide Wirkung des Alkohols wurde schon eingehend mit den verschiedensten Methoden und Testkeimen untersucht. Eichholz faßt das Resultat der oft sehr widersprechenden Angaben folgendermaßen zusammen: „Trockene Bakterien werden von absolutem Alkohol gar nicht und von seinen Verdünnungen sehr unregelmäßig und unzuverlässig, je nach ihrem Trockenheitsgrad, angegriffen. Feuchte Bakterien dagegen werden von Alkohol rasch und sicher abgetötet. Sporen werden gar nicht beeinflußt.“

Für das oft paradoxe Verhalten des Alkohols in bezug auf die Desinfektionskraft der verschiedenen Konzentrationen wurden die verschiedensten Theorien aufgestellt. Jedoch erst durch die neueren Untersuchungen in der Kolloidchemie hat man die richtige Erkenntnis für die Vorgänge bei der Alkoholdesinfektion bekommen: Die antibakterielle Wirksamkeit des Alkohols beruht auf seiner Eigenschaft, Kolloide durch Wasserentziehung zu koagulieren. Setzt man zu einer Eiweißlösung Alkohol, so koaguliert das Eiweiß, sobald die zugesetzte Alkoholmenge eine gewisse Grenze überschreitet. Dieses durch Alkohol koagulierte Eiweiß ist unmittelbar nach der Fällung in Wasser löslich, es ist reversibel, erst nach längerem Verweilen in Alkohol verliert es seine Löslichkeit, es wird irreversibel. Auf biologische Verhältnisse bezogen, bedeutet der reversible Fällungszustand eine Schädigung der Lebensfunktion, der irreversible Zustand den Tod der Zelle.

Ganz anders verhält sich der Alkohol gegen nicht gequollenes, trockenes Eiweiß. Uebergießt man trockenes Eiweiß, das im Wasser gut löslich ist, mit reinem Alkohol, so beobachtet man, daß der Alkohol keine Wirkung auf das Eiweiß ausübt. Setzt man das Eiweiß nun wässerigen Alkoholverdünnungen aus, so kann man feststellen, daß sich in 10-proz. Alkohol das Eiweiß wie in Wasser löst, in 20—40-proz. Alkohol quillt es sehr stark, in 50—70-proz. quillt es wenig und in 80—90-proz. bleibt es unverändert. Das durch 40—80-proz. Alkohol zur Quellung gebrachte Eiweiß ist nach entsprechend langer Einwirkungszeit nicht mehr in Wasser löslich, es ist koaguliert. Diesen Vorgang hat man sich so zu erklären, daß das Eiweiß zuerst durch das vorhandene Wasser zu quellen beginnt, das Quellwasser aber dann gegen Alkohol eingetauscht wird, und damit die Koagulation allmählich eintritt. Der verdünnte Alkohol bewirkt also eine Quellung und eine Entquellung.

Eichholz zieht aus dem Verhalten auf Eiweißlösung und trockenes Eiweiß, wie es von Frey untersucht wurde, folgenden Schluß auf die Wirkung des Alkohols auf die vegetativen Keime einerseits und trockene Keime andererseits. Er schreibt darüber folgendes: „Keime, die sich in regem Wachstum befinden, deren Protoplasmaeiweiß maximal gequollen (lebensfeucht) ist, wird von absolutem Alkohol am stärksten beeinflußt werden, während getrocknete Bakterien aber nur von Alkoholkonzentrationen, die trockenes Eiweiß quellen machen und denaturieren, also diejenigen zwischen 40 und 80 Proz., angegriffen werden. Es folgt daraus, daß Alkohol auf Sporen wirkungslos sein muß, da das Protoplasma seiner Wasserarmut wegen keine Entquellung erleiden kann und viel schwerer als das Eiweiß getrockneter Bakterien zum Quellen zu bringen ist.“

Die Wirkung von Alkohol auf Tetanussporen wurde von Sormani näher geprüft. Er fand, daß eine 24-stünd. Einwirkungszeit die Sporen noch nicht abtötet. Tizzoni und Cattani sahen nach 150-stünd. Einwirkungszeit noch keine Abtötung.

Meine eigenen Versuche erstreckten sich auf die Untersuchungen von 60-proz., 70-proz., 80-proz., 90-proz. und absolutem Alkohol.

Aus den angestellten Kultur- und Tierversuchen ergab sich, daß weder absol. Alkohol, noch 60-, 70-, 80-, 90-proz. Alkoholverdünnungen imstande sind, Tetanussporen abzutöten. Die über die Wirkung des Alkohols aufgestellte Theorie deckt sich also mit den durch das Experiment gewonnenen Resultaten, Sporen werden wegen ihrer Wasserarmut und ihrer schweren Quellbarkeit von absolutem Alkohol und Alkoholverdünnungen unbeeinflußt gelassen.

2. Phenol.

Der Gruppe der aromatischen Alkohole gehört eine Reihe sehr wichtiger Desinfektionsmittel an. Der einfachste Vertreter dieser Gruppe, der auch zuerst zu Desinfektionszwecken Verwendung gefunden hat, ist die Karbolsäure oder das Phenol.

Die antiseptische Wirksamkeit des Phenols beruht auf der Bildung von Phenoleiweiß aus dem Protoplasmaeiweiß.

Gegen Tetanussporen wurde die Wirksamkeit der Karbolsäure von Kitasato geprüft, der bei Anwendung von 5-proz. Karbolsäurelösung noch keine Abtötung nach 24 Std. feststellte, und von Sormani, der 10-proz. und Tizzoni und Cattani, die 5-proz. Lösung noch nach 24-stünd. Einwirkungszeit wirkungslos fanden.

Die zu diesen Versuchen benutzte 1-, 3- und 5-proz. Phenollösung wurde vor dem Gebrauch frisch aus Acidum carbolicum liquefactum hergestellt.

Aus meinen Versuchen ging hervor, daß eine 1-, 3- und 5-proz. Phenollösung nicht imstande ist, Tetanussporen in einem praktisch verwertbaren Zeitpunkte abzutöten. Auch der schädigende Einfluß auf die Sporen ist gering. Denn nach 7-täg. Einwirkungszeit war im Kulturversuch nach Einwirkung von 1- und 3-proz. Lösung noch ungehindertes Wachstum vorhanden. Nach Einwirkung von 5-proz. Lösung war verzögertes Wachstum der aufgehenden Kolonien festzustellen. Die Virulenz war nach dieser Einwirkungszeit noch nicht aufgehoben.

II. Kresole.

1. Kresol.

In ihrem Desinfektionswert wird die Karbolsäure wesentlich von ihren Homologen, den Kresolen, übertroffen.

Als Desinfektionsmittel ist eine große Anzahl löslich gemachter Kresolpräparate im Handel. Die Haupttypen dieser zahlreichen, meist nur verschieden benannten Präparate sind das Kreolin, das Lysol und die Kresolseifenlösung.

Eine eingehende Literaturübersicht über den Desinfektionswert der Kresole und ihre Zusammensetzung findet sich bei Laubenheimer.

Im Kriege haben die wasserlöslich gemachten Kresole einen großen Zuwachs erfahren, indem wegen des Mangels an Seifen andere Lösungsmittel als Ersatz eingeführt wurden.

Von den Kresolen wurde das Kreolin von Sormani auf seine Wirkung auf Tetanussporen untersucht. Er hat dabei gefunden, daß eine 5-proz. Lösung nach 48-stündiger Einwirkungszeit wirkungslos bleibt. Tizzoni und Cattani fanden bei der

Untersuchung des Pearsonschen Kreolins eine 2-proz. Lösung nach 24 Std. wirkungslos auf Tetanussporen, während eine 5-proz. Lösung nach 4 Std. die Sporen abtötete.

Die von mir angestellten Versuche zur Prüfung des Desinfektionswertes der Kresole auf Tetanussporen erstreckten sich auf:

1) eine 1,5-proz. Lösung von Lysol, die ich aus einer 50-proz. Stammlösung des von der Firma Schülke & Mayer im Handel befindlichen Lysols (Lysolum purum) frisch herstellte,

2) 1,5- und 2,5-proz., frisch bereitete Lösung aus einer 50-proz. Stammlösung von Liquor cresoli saponatus von unbekannter Herkunft,

3) 2-proz. Kreolinlösung, die ich aus einer Stammlösung von unbekannter Herkunft herstellte,

4) einige neuere, während des Krieges in den Handel gebrachte Kresolpräparate, dem Kresotin-Kresol der Firma E. Merck in Darmstadt, von der ich eine 2-proz. Lösung aus einer 50-proz. Stammlösung frisch herstellte,

dem Kresotin-Kresol Bayer, von dem ich eine 2-proz. Lösung aus der 50-proz. Stammlösung frisch bereitete, und

dem unter dem Namen Kresolseifenlösungsersatz, β-Lysol, von der Firma Schülke & Mayer hergestellten Präparat, von dem ich aus der 50-proz. Stammlösung eine 2-proz. Lösung frisch bereitete.

Die angegebenen Prozentzahlen beziehen sich auf den in der Lösung vorhandenen Gewichtsgehalt an Kresol.

Aus meinen Versuchen ging hervor, daß die untersuchten Kresole in einem praktisch verwertbaren Zeitraum die Tetanussporen nicht abzutöten vermögen. Im Kulturversuch waren die Sporen nach 14-tägiger Einwirkungsdauer noch ungeschädigt entwickelungsfähig. Im Tierversuch waren die Sporen, die 24 Std. den Kresolen ausgesetzt waren, noch ungeschwächt virulent. Die Tiere starben in wenigen Tagen an Impfstarrkrampf.

2. Halogenkresole.

Laubenheimer hat festgestellt, daß durch die Substituierung der Kernwasserstoffatome durch Halogenatome die Desinfektionskraft der Kresole zunimmt. Man bezeichnet diese Gruppe der Kresolabkömmlinge als Halogenkresole.

Als wirksamstes Desinfektionsmittel von diesen Halogenkresolen und damit von allen Kresolabkömmlingen hat sich das Chlormetakresol erwiesen, das auch praktisch als Desinfektionsmittel in Anwendung kam.

Das Chlormetakresol kommt als Desinfektionsmittel unter den Bezeichnungen Lysochlor, Phobrol und Grotan im Handel vor. Ihr Desinfektionswert hängt von ihrem Gehalt an Chlorkresol ab.

Ueber die Wirkung der Halogenkresole auf Tetanussporen liegen keine Untersuchungen vor. Von mir wurde eine 1- und 3-proz. wässerige Lösung von Chlormetakresol untersucht. Diese Lösung bereitete ich mir selbst frisch aus einer im Laboratorium aus gleichen Teilen Seifenlösung und Chlormetakresol hergestellten Stammlösung. Ferner wurde das von der Firma Schülke & Mayer A.-G. Hamburg unter dem Namen Grotan in den Handel gebrachte Chlorkresolpräparat auf seine Wirkung auf Tetanussporen untersucht. Ich stellte nach der beigefügten Gebrauchsanweisung durch Auflösung von 2 Grotantabletten in 1 l warmen Wasser eine 0,2-proz. Lösung her.

Aus meinen Versuchen ersah man, daß auch die beiden untersuchten Halogenkresole, Chlormetakresol und Grotan, praktisch zur Desinfektion von Tetanussporen unbrauchbar sind. 1- und 3-proz. Chlormetakresol vermochte in 26 Tagen und 0,2-proz. Grotan in 10 Tagen Tetanussporen noch nicht abzutöten. Tetanussporenseidenfäden, die

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

24 Std. einer 3-proz. Chlormetakresollösung ausgesetzt waren, besaßen ihre volle Virulenz noch für die Impftiere.

III. Schwermetalle.

1. Sublimat.

Unter den Schwermetallen nimmt das Sublimat als Desinfektionsmittel die führende Stellung ein.

Robert Koch hat zuerst die Wirkung des Sublimats an den an Seidenfäden angetrockneten Milzbrandsporen näher untersucht und gefunden, daß es in Verdünnungen 1:1000 in 1 Min. und von 1:20000 Milzbrandsporen in 10 Min. abzutöten vermag. Später hat Geppert darauf hingewiesen, daß die Desinfektionskraft des Sublimats durch diese Resultate Kochs und seiner Schüler überschätzt wurde. Es gelang ihm den chemischen Nachweis zu erbringen, daß Sublimat in den Seidenfäden haften bleibt, daß dieses Sublimat bakterizid nachwirkt und vor allem durch die Uebertragung auf den Nährboden derart entwickelungshemmend wirkt, daß eine Abtötung der Testkeime vorgetäuscht wird. Geppert stellte Versuche an das Sublimat mit Schwefelammonium auszufällen, und es gelang ihm, mit Hilfe einer von ihm ausgearbeiteten Methode zu ganz anderen Werten über die Desinfektionskraft des Sublimats zu kommen.

Um das Sublimat nach der Einwirkungszeit auf die Testobjekte rasch und sicher unschädlich zu machen und die Uebertragung von noch so geringen Mengen, die immerhin imstande sind, entwickelungshemmend zu wirken, zu verhindern, hat Laubenheimer festgestellt, daß das Waschen mit sterilem destillierten Wasser nach der von ihm gewählten Waschmethode die gleichen Resultate lieferte, als wenn er die Granaten vor der ersten Abspülung 10 Min. in eine 3-prom. Schwefelammoniumlösung legte.

Ich habe deshalb bei der weiteren Durchführung der Versuche das Waschen der Granaten mit steril. destill. Wasser dem Spülen mit chemischen Mitteln vorgezogen. Die Sporenseidenfäden habe ich jedoch vor der Waschung mit Wasser 10 Min. in eine 3-prom. Schwefelammoniumlösung gebracht.

Untersucht habe ich eine 1-prom. und 5-prom. Sublimatlöung, die ich nicht aus den Angererschen Sublimatpastillen, sondern aus dem Salz Hydragyrum bichloratum corrosivum frisch herstellte. Zur Bereitung der sauren 1-prom. Sublimatlösung setzte ich der Stammlösung 1 Volumproz. 25-proz. Salzsäure zu.

Ferner untersuchte ich wässerig-alkoholische 1-prom. Sublimatlösungen, die wechselnde Mengen von Alkohol (10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 Proz.) enthielten.

Aus meinen Versuchen ging hervor, daß eine 1-prom. und 5-prom. Sublimatlösung nicht imstande ist, Tetanussporen in einem praktisch nutzbaren Zeitraume abzutöten. Nach 4-stünd. Einwirkungszeit dieser Lösungen stellte sich langsam eine schädigende Wirkung auf die Sporen ein. Aber erst nachdem diese 8 Tage in einer 1-prom. und 4 Tage in einer 5-prom. Sublimatlösung gelegen hatten, zeigten sie sich nicht mehr lebensfähig.

Die von Tizzoni und Cattani beobachtete Erscheinung, daß Tetanussporen nach Behandlung mit Sublimatlösung starke Wachstumsverzögerungen zeigen, habe ich bei meinen Versuchen ebenfalls feststellen können, jedoch nicht in solcher Stärke wie Tizzoni und Cattani berichten. Die längste Wachstumsverzögerung betrug 10 Tage. Im Tierversuch erwiesen sich die Sporen nach 24 Std. von einer 1-prom. Sublimatlösung in ihrer Virulenz nicht geschwächt. Erst nach 72-stünd. Einwirkungszeit hatte das Sublimat die Virulenz so weit herabgesetzt, daß die Maus noch erkrankte, aber nicht mehr starb. Nach

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

5 Tage langer Einwirkungszeit der Sublimatlösung waren die Sporen derart geschädigt, daß die Maus wohl noch erkrankte, aber nach 25-täg. Krankheitsdauer wieder vollständig gesund wurde.

Durch Zusatz von 1 Volumproz. Salzsäure zu der 1-prom. Sublimatlösung zeigten sich die Sporen nach 48-stünd. Einwirkungszeit nicht mehr lebensfähig im Kulturversuch. Ich kann die von Tizzoni und Cattani vertretene Anschauung, daß der Unterschied der Wirkung zwischen der wässerigen 1-prom. Sublimatlösung und der salzsauren 1-prom. Sublimatlösung nur in einer Verzögerung des Wachstums der aufgehenden Sporen liegt, nicht bestätigen. In meinen Versuchen konnte ich bei einem Zusatz von 1 Volumproz. Salzsäure deutlich eine Erhöhung der Desinfektionskraft der 1-prom. Sublimatlösung beobachten.

Durch Zusatz von Alkohol zu der 1-proz. Sublimatlösung konnte ich keine Erhöhung der Desinfektionskraft auf Tetanussporen feststellen. Bei Zusatz von 70—100 Proz. Alkohol war sogar eine Abnahme der Desinfektionswirkung eingetreten.

2. Silbernitrat.

Aus der Gruppe der Schwermetalle gehören neben den Qecksilbersalzen die Silbersalze zu den wirksamsten Desinfektionsmitteln.

Die Wirkung des salpetersauren Silbers auf Tetanussporen wurde von Tizzoni und Cattani näher untersucht. Von einer 1-proz. Silbernitratlösung wurden die Tetanussporen in 1 Min. und von einer 1-prom. Lösung in 5 Min. abgetötet. Nach diesen Untersuchungen widerstehen die Tetanussporen im Gegensatz zu den Milzbrandsporen dem Sublimat besser, dem salpetersauren Silber schlechter.

Aus meinen Versuchen ging hervor, daß eine 1-proz. Argentum nitricum-Lösung erst nach 100 Min. und eine 1-prom. Lösung nach 24 Std. resistente Tetanussporen abtötet. Die von Tizzoni und Cattani beobachtete Erscheinung, daß Argentum nitricum stärker desinfizierend auf Tetanussporen wirkt als das Sublimat, geht auch aus meinen Versuchen hervor.

Tetanussporenseidenfäden, die 80 und 100 Min. in 1-proz. Argentum nitricum-Lösung gelegen hatten, lösten bei den weißen Mäusen noch leichte tetanische Erscheinungen aus, die ungefähr 14 Tage anhielten. Nach dieser Zeit waren die Tiere wieder vollkommen gesund. Die Sporen waren also auch nach dieser Einwirkungszeit deutlich in ihrer Virulenz abgeschwächt.

3. Zinkchlorid.

Das Zinkchlorid, das in der Veterinärmedizin vielfach gebraucht wird, habe ich ebenfalls mit in den Kreis meiner Untersuchungen gezogen.

Die von mir geprüfte 5-proz. und 20-proz. Zinkchloridlösung habe ich aus Zincum chloratum pur. alb. siccum D. A. B. V der Firma E. Merck hergestellt. Da das Salz sich in destilliertem Wasser nicht vollkommen löste, habe ich 1 Volumproz. 25-proz. Salzsäure zugesetzt.

Nach den von mir angestellten Untersuchungen kommt dem Zinkchlorid eine praktisch nutzbare Desinfektionskraft nicht zu. Erst in 20-proz. Lösung vermag das Zinkchlorid Tetanussporen in 48 Std. abzutöten.

V. Alkalien.

Soda, Seife, Kalk.

Von den Alkalien habe ich die Einwirkung von Soda, Seife und Kalk auf Tetanussporen geprüft. In geringer Menge Nährsubstraten zugesetzt, begünstigen die Alkalien das Wachstum der meisten Bakterien, während durch größere Mengen das Protoplasmaeiweiß durch die Umwandlung in Alkalialbuminat seine vitale Fähigkeit einbüßt.

Die Technik, mit der ich die Seifen- und Sodalösung auf ihre Wirkung bei Hitze prüfte, war folgende:

Kleine 2 Gramm-Fläschchen mit der Seifen- und Sodalösung gefüllt, stellte ich so ins Wasserbad, daß sie vollkommen vom Wasser umspült waren. Nachdem das Wasserbad den gewünschten Temperaturgrad erreicht hatte, wartete ich noch ungefähr eine Viertelstunde, um sicher zu sein, daß das Fläschchen nebst Inhalt die Temperatur des Wassers hatte. Sodann warf ich den Granaten in das Fläschchen. Nach Ablauf der Einwirkungszeit wurde er dem üblichen Waschprozeß unterzogen.

Die untersuchte Kalkmilch habe ich nach der amtlichen Desinfektionsanweisung aus frisch gebranntem Aetzkalk hergestellt. Aetzkalk wurde solange mit Wasser besprengt, bis er zu Kalkpulver zerfallen war. Unter stetem Umrühren habe ich dann zu 200 ccm gelöschtem Kalk 600 ccm Wasser hinzugefügt.

Aus meinem Versuche ging hervor, daß den untersuchten Alkalien, der 5-proz. Soda-, 10-proz. Seifenlösung und der Kalkmilch, bei Zimmertemperatur keine Desinfektionskraft auf Tetanussporen zukommt. Auch auf 60° erwärmte 5-proz. Soda- und 10-proz. Seifenlösung vermochte die Tetanussporen nicht in kurzer Zeit abzutöten. Sehr erheblich steigerte sich die Desinfektionskraft, sobald die Lösungen auf die Temperatur des kochenden Wassers gebracht wurden. Dabei zeigte sich, daß die Tetanussporen durch 5-proz. Sodalösung in 3 Min. und durch 10-proz. Seifenlösung in 5 Min. abgetötet waren. Auch im Tierversuch waren die Sporen in 5 Min. durch 5-proz. Sodalösung und in 10 Min. von 10-proz. Seifenlösung nicht mehr virulent für die Impftiere.

VI. Wasserstoffsuperoxyd.

Das Wasserstoffsuperoxyd nimmt durch seine Reizlosigkeit auf das tierische Gewebe und durch seine ihm innewohnende recht beträchtliche Desinfektionskraft eine sehr hohe Stellung unter den Desinfektionsmitteln ein.

Die antibakterielle Wirkung des Wasserstoffsuperoxyds beruht auf der Abspaltung von einem Atom Sauerstoff, das im status nascendi das Zellprotoplasma durch Oxydation abzutöten vermag. Nach Eichholz ist der bei dem Desinfektionsvorgang tätige Sauerstoff sinnlich nicht wahrnehmbar. Es geht also der beim Zusammenkommen von Wasserstoffsuperoxyd mit Eiter, Blut oder Bakterien durch die Katalase abgespaltene, in sichtbare Form übergehende Sauerstoff für die Desinfektionswirkung verloren.

Die über die bakterizide Wirkung des Wasserstoffsuperoxyds angestellten zahlreichen Untersuchungen haben zu keinen gleichmäßigen Ergebnissen geführt, die nach der Anschauung von Eichholz auf die Verwendung von nicht reinen Wasserstoffsuperoxydpräparaten bei den Prüfungsversuchen zurückzuführen ist. Durch die in dem Wasserstoffsuperoxyd mehr oder weniger vorhandenen Mineralsäuren, die zur Konservierung immer zugesetzt werden, wird die eigentliche Wirkung des Wasserstoffsuperoxyds verschleiert. Erst durch das von der Firma E. Merck in Darmstadt 1900 hergestellte chemisch vollkommen reine 30-proz. Wasserstoffsuperoxyd, das den Namen Perhydrol führt, war es möglich, die Desinfektionskraft des Wasserstoffsuperoxyds ohne seine früheren Nebenwirkungen zu prüfen. Das 30-proz. Perhydrol kommt in innen ausparaffinierten Glasgefäßen in den Handel, da das hochprozentige Wasserstoffsuperoxyd durch das aus dem Glas frei werdende Alkali katalytisch zersetzt werden würde.

Ueber die Einwirkung des Wasserstoffsuperoxyds auf Tetanussporen liegen zurzeit noch keine Untersuchungen vor. Gleichwohl erfreut sich das Wasserstoffsuperoxyd bei der Behandlung mit Starrkrampf infizierten oder suspekten Wunden großer Beliebtheit (Czerny, Weintraud, Mühsam, Siebold). Diese Autoren gingen dabei meist von dem Gedanken aus, daß das Wasserstoffsuperoxyd durch den freiwerdenden Sauerstoff auf den streng anaërob wachsenden Tetanusbazillus ganz besonders schädigend wirken müsse.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Die von mir untersuchte 1-, 2- und 3-proz. Wasserstoffsuperoxydlösung habe ich bei Beginn der Versuche frisch aus 30-proz. Perhydrol hergestellt, Bei dem Arbeiten mit Wasserstoffsuperoxydlösungen beobachtete ich. daß das Einwirken der trockenen Testobjekte genügt, katalytisch das Wasserstoffsuperoxyd zu spalten. Es bilden sich um den Granaten und vor allem um die Seidenfäden kleine Luftbläschen, die die Testobjekte vor dem Einwirken des Mittels schützten und zu wechselnden Resultaten Anlaß gaben. Um diese Fehlerquelle auszuschalten, habe ich den Lösungen einen negativen Katalysator zugesetzt, der die allzu starke Spaltung des Wasserstoffsuperoxyds herabsetzt. Die sich nun um die Testobjekte bildenden Bläschen ließen sich durch sofortiges Schütteln des Fläschchens leicht entfernen. Ich habe auf diese Weise bei allen durchgeführten Versuchen gleichmäßige Resultate erhalten. Als negativen Katalysator habe ich zu den Wasserstoffsuperoxydlösungen 0,1 Proz. Acetanilid zugefügt.

Um das Wasserstoffsuperoxyd nach der Einwirkungszeit von den Granaten zu entfernen, habe ich zu Anfang der Versuche die Testobjekte der beschriebenen Waschung mit sterilem destillierten Wasser unterzogen. Die nach dieser Technik behandelten Testsporen waren durch die Wasserstoffsuperoxydlösungen viel früher abgetötet, als wenn ich das Desinfiziens von den Testobjekten durch Waschung mit einer Lösung von Hammelblutkörperchen entfernte.

Ich habe aus diesem Grunde bei der weiteren Durchführung der Versuche die Granaten vor der Waschung mit Wasser in eine Lösung von 1,5 ccm gewaschener steriler Hammelblutkörperchen und 5 ccm steril. destill. Wasser geworfen, wodurch das Desinfizienz sehr rasch katalytisch zersetzt wurde, ohne daß dadurch eine Schädigung der Sporen eintreten konnte. Die dabei angewandte Technik war folgende:

Nach der Einwirkungszeit des Wasserstoffsuperoxyds erfaßte ich die Testobjekte mit steriler Pinzette, warf sie in die Auflösung der Hammelblutkörperchen und ließ sie so lange darin liegen, bis kein Aufperlen mehr zu beobachten war, was wenige Sekunden dauerte. Hierauf brachte ich die Testobjekte 5 Min. und daran anschließend nochmals 10 Min. in steriles Wasser.

Bei Tierversuchen ist die Waschung nicht unbedingt erforderlich, da die Seidenfäden schon beim Verimpfen in den Tierkörper mit Blut in Berührung kommen, so daß das Wasserstoffsuperoxyd gespalten und unschädlich gemacht wird. Da jedoch zwischen der Herausnahme der Fäden aus dem Desinfiziens und der Verimpfung immer eine gewisse Zeit verstreicht, so hat man es nicht in der Hand, die Einwirkungszeit des Desinfiziens scharf abzugrenzen, und ich habe deshalb die Seidenfäden nach der oben beschriebenen Methode gewaschen.

Nach den von mir angestellten Versuchen ergab sich, daß 30-proz. Perhydrol Tetanussporen in 5 Min. abtötet. Von einer 1- und 2-proz. Wasserstoffsuperoxydlösung werden die Sporen in 24 Std. und von einer 3-proz. Lösung in 120 Min. unschädlich gemacht. Die durch den Kulturversuch gewonnenen Abtötungsergebnisse decken sich mit den durch den Tierversuch gewonnenen Zeiten. Es kommt mithin dem Wasserstoffsuperoxyd relativ eine recht beträchtliche Desinfektionskraft auf Tetanussporen zu.

VI. Halogene.

1. Chlor, Jod und Jodtrichlorid.

Die Halogene Brom, Chlor und Jod sind als starke Desinfektionsmittel bekannt.

Bei der Prüfung des Jods auf seine Desinfektionskraft verwendete man vorzugsweise die Jod-Jodkaliumlösung. Jod ist in Wasser nur in geringer Menge löslich. Durch den Zusatz von Jodkalium erhöht sich die Löslichkeit des Jods im Wasser. Man hat auf diese Weise die Möglichkeit, auch stärkere wässerige Jodlösungen auf ihre desinfizierende Wirksamkeit zu prüfen. Allerdings wird die Desinfektionskraft des Jods durch den Jodkaliumzusatz herabgesetzt, wie Krönig und Paul nachgewiesen haben.

Einer sehr großen Beliebtheit und Verbreitung erfreut sich eine Lösung von 10 Proz. Jod in Alkohol als Wundmittel und bei der Hautdesinfektion.

Ueber die Einwirkung einer 1-proz. Jodtinktur auf Tetanussporen hat Sormani berichtet. Er fand, daß die Sporen durch diese alkoholische Jodlösung in 48 Std. noch nicht abgetötet waren. Tizzoni und Cattani haben eine 1-proz. Jodlösung in Aether nach 24-stünd. Einwirkungszeit unwirksam auf Tetanussporen gefunden. Mit Jodwasser, das durch Auflösung von metallischem Jod in Wasser bereitet wurde, erzielten Tizzoni und Cattani bei einer Temperatur von 35° in 6 Std. Abtötung der Tetanussporen.

Im Jodtrichlorid haben wir nach Behring ein Mittel, das die hervorragende Desinfektionskraft der beiden Halogene, Jod und Chlor, ohne deren Nachteile besitzt.

Bei den von mir vorgenommenen Untersuchungen der Halogene habe ich die Testobjekte nach der Einwirkungszeit der Desinfektionslösung mit $^1/_{10}$ Normal-Natriumthiosulfatlösung abgespült, wodurch die Halogene rasch unschädlich gemacht werden.

Nach den angestellten experimentellen Untersuchungen kommt den Halogenen die stärkste Desinfektionskraft auf Tetanussporen zu. Chlorwasser tötete nach dem Kulturversuch in 0,4-proz. Lösung die Sporen in 5 Min. und in 0,003-proz. Lösung in 60 Min. ab.

Von einer 0,5-proz. Jod-Jodkaliumlösung werden die Sporen in 80 Min. und von einer 1-proz. Lösung in 60 Min. abgetötet. Eine 0,001-proz. Lösung tötet die Sporen noch nicht nach 24 Std. ab. Von 10-proz. Jodtinktur wurden die Sporen in 10 Min. vernichtet.

Am stärksten desinfizierend wirkt Jodtrichlorid, das in 1-proz. Lösung die an Granaten angetrockneten Sporen in 30 Sek. und in 0,2-proz. Lösung in 10 Min. abgetötet hatte.

Die an Seidenfäden angetrockneten Sporen zeigten im Tierversuch einige von dem Kulturversuch abweichende Abtötungszeiten. Jodtinktur tötete in 5 Min. die Sporen nicht ab, hatte sie in dieser Zeit aber doch derart geschwächt, daß die Tiere noch an Starrkrampf erkrankten, aber nicht mehr daran starben. Die durch 1-proz. Jod-Jodkaliumlösung im Kulturversuch gewonnene Abtötungszeit von 1 Std. stimmte mit der durch den Tierversuch erhaltenen Zeit überein. Das Tränken eines Testfadens mit 1-proz. Jod-Jodkaliumlösung und sofortiger Verimpfung genügte nicht, die Sporen zu vernichten.

Testfäden, die 1 und 3 Min. einer 1-proz. Jodtrichloridlösung ausgesetzt waren, zeigten sich noch virulent für die Maus, ohne daß sie dieselben noch zu töten vermochte. Nach 10 Min. langer Einwirkungszeit dieser Lösung waren aber auch die an Seidenfäden angetrockneten Sporen abgetötet. Ebenso waren die Sporen vernichtet, wenn der Testfaden mit 1-proz. Jodtrichloridlösung getränkt und mit dem Desinfektionsmittel verimpft wurde.

Nach diesen Ergebnissen über das Jodtrichlorid kann ich die von Behring beobachtete Erscheinung bestätigen, daß die an Seidenfäden angetrockneten Sporen von Jodtrichlorid nicht so rasch geschädigt werden, wie die als Emulsion dem Desinfiziens ausgesetzten Sporen. Auch meine an Granaten angetrockneten Sporen waren viel früher vernichtet, als die an Seidenfäden angetrockneten. Diese Erscheinung führe ich darauf zurück, daß die stark oxydierbare Seidenfaser die Sporen vor der Oxydation durch die Halogene schützt, deren Desinfektionswirkung chemisch als Oxydation zu deuten ist. Die gleiche Erscheinung konnte ich beim Chlorwasser beobachten, das in 0,4-proz. Lösung nicht imstande war, die an Seidenfäden angetrockneten Sporen in der gleichen Zeit wie die an Granaten angetrockneten abzutöten.

2. Chlorkalk.

Der Chlorkalk findet zu praktischen Desinfektionszwecken vielfach Verwendung.

Die von mir angestellten Untersuchungen erstreckten sich auf Chlorkalkmilch, wie sie bei den amtlichen Desinfektionsverfahren gebraucht wird. Ich habe die Chlorkalkmilch nach der amtlichen Desinfektionsanweisung folgendermaßen hergestellt: Zu 1 l frischen Chlorkalk (Calcaria chlorata Ph. G. V.) setzte ich allmählich unter stetem Umrühren 5 l Wasser.

Um einen Maßstab über die Güte des verwendeten Chlorkalks zu bekommen, habe ich auf folgende Weise den Gehalt an elementarem Chlor quantitativ bestimmt:

5 g Chlorkalk wurden in einer Reibschale mit Wasser zu einem feinen Brei verrieben und in einem Meßkolben von 500 ccm Inhalt gründlich aufgeschüttelt. 50 ccm dieser Flüssigkeit wurden mit 20 ccm einer 4-proz. Kaliumjodidlösung gemischt und 5 ccm Salzsäure (1,124—1,126) zugesetzt. Das ausgeschiedene Jod wurde mit $^1/_{10}$ Normal-Natriumthiosulfatlösung titriert. Nach dieser Methode konnte ich in dem von mir verwendeten Chlorkalk einen Gehalt von 28,79 Proz. Chlor feststellen.

Nach Ablauf der Einwirkungszeit habe ich die Granaten aus der Kalkmilch in einer $^1/_{10}$ Normal-Natriumthiosulfatlösung gründlich abgespült, sodann 5 Min. und daran anschließend 10 Min. in sterilem Wasser gewaschen.

Aus den angestellten Versuchen ersah man, daß die untersuchte Chlorkalkmilch sehr stark abtötend auf Tetanussporen wirkt. Nach einer Einwirkungszeit von 10 Min. waren die Sporen durch Chlorkalkmilch vernichtet.

VII. Formalin.

Das Formalin ist ein besonders zur Raumdesinfektion gebrauchtes Desinfektionsmittel. Die desinfizierende Wirkung des Formalins beruht auf der Bildung einer eigenartigen Eiweißadditionsverbindung, dem Methyleneiweiß, aus dem Protoplasmaeiweiß.

Ich untersuchte eine 3-proz. und 30-proz. Formalinlösung auf ihre Wirkung auf Tetanussporen. Um das Formalin, das bei Uebertragung auf den Nährboden sehr stark entwickelungshemmend wirkt, rasch unschädlich zu machen, habe ich die Granaten vor dem Waschprozeß mit sterilem Wasser eine Minute lang in 1-proz. Ammoniaklösung gebracht, die ich aus 10-proz. Liquor ammonii caustici frisch hergestellt habe.

Aus den angestellten Desinfektionsversuchen mit Formalin ergibt sich, daß 30-proz. Formalin die Tetanussporen in 60 Min. abtötet. Eine Abschwächung der Sporen war nach 20 Min. langer Einwirkungszeit zu beobachten. In 3-proz. Lösung schwächt das Formalin die Sporen nach 120 Min. langer Einwirkungszeit. Vollkommene Abtötung war erst nach

24-stünd. Einwirkungszeit eingetreten. Nach dem Tierversuch waren die Sporen von 30-proz. Formalin in 40 Min. und von 3-proz. Formalin in 24 Std. abgetötet.

VIII. Perubalsam.

Perubalsam, der eigentlich nicht als Desinfektionsmittel anzusprechen ist, wurde in der Literatur wiederholt zur Behandlung von mit Starrkrampf infizierten Wunden empfohlen (Czerny, Ritter). Um zu prüfen, ob der Wert, den man sich von der Wirkung des Perubalsams auf Tetanussporen verspricht, ihm auch zukommt, habe ich auch mit Perubalsam experimentelle Untersuchungen auf Tetanussporen angestellt.

Die angestellten Versuche mit Perubalsam ergaben, daß dieser nicht imstande ist, Tetanussporen abzutöten.

IX. Wundstreupulver.

Durch ein von der Firma E. Merck-Darmstadt vor nicht zu langer Zeit in den Handel gebrachtes, mit dem Namen Ibol bezeichnetes Wundstreupulver, das wegen seines hohen Jodgehaltes die Aussicht bot, stark bakterizid auf Tetanus zu wirken, wurde ich veranlaßt, auch dieses Mittel einer näheren Prüfung auf seine Desinfektionswirkung auf Tetanussporen zu unterziehen. Gleichzeitig habe ich noch einige andere im Gebrauch befindliche Wundstreupulver, wie Jodoform, Tannoform, Magnesiumperhydrol, Perhydrit und ein noch nicht eingeführtes Mittel, das Magnesiumhypochlorit, in den Kreis meiner Untersuchungen mit hineingezogen.

Beim Ibol ist nach den Angaben der Firma E. Merck Jod durch Adsorption an hochwertige Kohle, Carbo medicinalis, gebunden und enthält ferner als Adsorptionsmittel für Wundsekrete feingepulverten, sterilisierten Bolus. Außerdem noch reines Talkum. In trockenem Zustand gibt das Ibol kein Jod ab, auch mit Wasser kann es nur in kaum nennenswerten Mengen entzogen werden. Nach Dornis wird bei der Berührung des Ibols mit Wundsekreten oder anderen Flüssigkeiten, welche Jod zu lösen oder chemisch zu binden imstande sind, so viel Jod frei, daß eine starke antibakterielle Wirkung erzielt wird.

Jodoform ist ein altes und noch heute geschätztes Wundmittel zur Behandlung von eiternden Wunden.

Behring hat über das Jodoform und sein Verhalten in Wunden eingehende Untersuchungen angestellt und gefunden, daß das Jodoform nur dann antiseptische Wirksamkeit ausübt, wenn es zersetzt wird. Die Bedingungen für die Zersetzung des Jodoforms sind in Wunden da am günstigsten, wo infolge von lebhaften Zersetzungsprozessen kräftige chemische Wirkungen ausgeübt werden. Die chemischen Wirkungen hält Behring für kräftige Reduktionsvorgänge, bei denen, ähnlich wie bei der Zersetzung des in Wasser verteilten Jodoforms, durch den naszierenden Wasserstoff lösliche Jodverbindungen entstehen. Ferner fand Behring noch, daß eitererregende Ptomaine mit Jodoform chemische Umsetzungen erleiden und dann Eiter zu erzeugen nicht mehr in der Lage sind. Eine Desinfektion, d. h. eine Abtötung der Bakterien, findet nach Behring durch Jodoform selbst da, wo es in großen Mengen dem Eiter zugesetzt wird, nicht statt.

Die Wirkung des Jodoforms auf Tetanussporen wurde sowohl von Sormani wie von Tizzoni und Cartani eingehend geprüft. Nach dem Zitat von Tizzoni und Cattani hat Sormani gefunden, daß das Jodoform sowohl nach dem Kultur- wie nach dem Tierversuch ein sehr stark desinfizierendes Mittel ist, das sogar das Sublimat an Desinfektionskraft noch übertrifft. Nach den Feststellungen Sormanis vermag das Jodoform das Tetanusvirus zu zerstören, aber es ist nicht imstande, schon entwickelten Tetanus zu unterbrechen.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Tizzoni und Cattani, die gerade durch die Schlüsse Sormanis über die Wirkung des Jodoforms zu ihren Untersuchungen angeregt wurden, kamen zu ganz anderen Ergebnissen über den Desinfektionswert des Jodoforms. Nach den Kulturversuchen, die die beiden italienischen Untersucher anstellten, vermag das Jodoform Tetanussporen noch nicht nach 69 Stunden abzutöten.

Eine Prüfung der Wundstreupulver auf ihren Desinfektionswert, die den praktischen Verhältnissen am meisten Rechnung trug, schien mir in einwandfreier Weise nur durch den Tierversuch möglich, denn nur bei der Berührung mit Wundsekreten vermögen die trockenen Streupulver desinfizierende Kraft zu entfalten.

Mäuse waren für den Tierversuch wenig geeignet. Bei den kleinen Wundöffnungen, die man bei diesen Tieren zur Verimpfung der Fäden anlegt, streift sich das in den Testobjekten haftende Streupulver ab, es kommt nicht genügend in die Hauttasche, und falsche Resultate sind die Folge. Ich verwendete deshalb zu meinen Versuchen Meerschweinchen, denen ich am linken Hinterschenkel nach Abscheren der Haare mit dem Messer einen kleinen Hautschnitt anlegte und von hier aus stumpf die Haut zu einer größeren Hauttasche von der Unterhaut abhob. In diese Hauttasche brachte ich sodann den Testfaden, den ich nach dem Anfeuchten mit Wasser mit so viel Wundpulver umhüllte, wie durch die Feuchtigkeit an ihm haften blieb. Die Wunde verschloß ich dann mit einer Wundklammer.

Aus den angestellten Desinfektionsversuchen mit den Wundstreupulvern ergab sich, daß dem Ibol eine sehr erhebliche Desinfektionskraft auf Tetanussporen zukommt, während dieselben durch das Jodoform keine Schädigungen erleiden. Abgetötet werden die Tetanussporen ferner von Magnesiumhypochlorit und von Perhydritpulver, während die mit Tannoform und Magnesiumperhydrol behandelten Seidenfäden noch mit virulenten Sporenbehaftet waren.

Zusammenstellung der Abtötungszeiten.

Die von mir untersuchten sehr resistenten Tetanussporen wurden durch folgende chemische Desinfektionsmittel abgetötet:

1) In weniger als 10 Min. von:

a) 1-proz. Jodtrichloridlösung,
b) 0,2-proz. Jodtrichloridlösung,
c) 5-proz. Sodalösung von 100°,
d) 10-proz. Seifenlösung von 100°,
e) 0,4-proz. Chlorwasser,
f) 10-proz. Tinctura Jodi,
g) Chlorkalkmilch,
h) 30-proz. Wasserstoffsuperoxyd.

2) In weniger als 24 Std. wurden die Sporen abgetötet von:

a) 1-proz. Jod-Jodkaliumlösung,
b) 0,03-proz. Chlorwasser,
c) 30-proz. Formalin,
d) 0,5-proz. Jod-Jodkaliumlösung,
e) 1-proz. Höllensteinlösung,
f) 3-proz. Wasserstoffsuperoxyd,
g) 0,1-, 0,05-, 0,01-, 0,005-proz. Jod-Jodkaliumlösung,
h) 2-proz. und 1-proz. Wasserstoffsuperoxydlösung,
i) 1-prom. Hollensteinlösung,
k) 3-proz. Formalin.

3) Nicht abgetötet wurden die Sporen von:

a) 0,001-proz. Jod-Jodkaliumlösung,
b) 1-prom. und 5-prom. Sublimatlösung,
c) Salzsaure 1-prom. Sublimatlösung,
d) Sublimatspiritus,
e) 1-proz., 3-proz., 5-proz. Phenol,
f) den Kresolen:
  1,5-proz. Lysol,
  1,5-proz. u. 2,5-proz. Kresolseifenlösung,
  2-proz. Kreolin,
  2-proz. Kresotinkresol (Merck),
  2-proz. Kresotinkresol (Bayer),
  2-proz. Kresolseifenlösungsersatz,
g) Halogenkresolen,
  1-proz., 3-proz. Chlormetakresol,
  0,2-proz. Grotan,
h) Alkoholen,
  absol. Alkohol,
  Alkoholverdünnungen,
i) Alkalien,
  5-proz. Sodalösung,
  10-proz. Seifenlösung,
  Kalkmilch,
k) 5-proz. und 20-proz. Zinkchlorid,
l) Perubalsam.

Von den untersuchten Wundstreupulvern wurden die Tetanussporen im Tierversuch abgetötet von:

1) Ibol,
2) Magnesiumhypochlorit,
3) Perhydritpulver.

Nicht abgetötet wurden die Sporen von:

1) Jodoform,
2) Tannoform,
3) Magnesium-Perhydrol.

Die Ergebnisse meiner angestellten Untersuchungen lassen sich in folgenden Punkten zusammenfassen:

1) Angaben über Desinfektionswirkung chemischer Mittel auf Tetanussporen haben nur dann Wert, wenn gleichzeitig die absolute Hitzeresistenz der verwendeten Testsporen angegeben wird.

2) Die Hitzeresistenz der Tetanussporen ist sehr wechselnd und abhängig von der Art der Züchtung, der Zusammensetzung des Nährbodens und dem Alter des verwendeten Sporenmaterials.

3) Zum Unschädlichmachen des den Sporen anhaftenden Giftes genügt eine Erhitzung von 5 Min. auf 65°.

4) Für Kulturversuche ist das Wachstum der Tetanussporen in hoher Fleischwasserpeptonagarschicht ohne besondere Zusätze ein geeignetes und einfaches Kulturverfahren.

5) Von den chemischen Desinfektionsmitteln haben die durch Oxydation wirkenden Mittel wie die Halogene und das Wasserstoffsuperoxyd eine stark abtötende Wirkung auf Tetanussporen, während die eiweißfällenden Mittel wie Alkohol, die Schwermetalle, die Phenole und Kresole weniger stark oder überhaupt nicht desinfizierend wirken. Es ist aus diesem Grunde zweckmäßig, zu praktischen Desinfektionszwecken von den oxydierenden Mitteln Gebrauch zu machen, obwohl auch von diesen Mitteln mit Ausnahme des Jodtrichlorids keine augenblickliche Abtötung der Tetanussporen zu erwarten ist.

Literaturangaben.

Behring, Ueber Desinfektionsmittel und Desinfektionsmethoden. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 9. S. 414.) — Indikation für die serumtherapeutische Tetanusbekämpfung. (Deutsch. med. Wochenschr. 1914. S. 1834.) — Ueber Jodoform. (Deutsch. med. Wochenschr. 1887. S. 422.)

Dornis, Versuche mit Ibol-Merck in der Wundbehandlung. (Zeitschr. f. Veterinärk. 1918. H. 11.)

Eichholz, Darmstadt, Ueber chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika (unveröffentlicht).

Frey, Warum wirkt gerade 70-proz. Alkohol so stark bakterizid? (Deutsch. med. Wochenschr. 1912. S. 1633.)

Geppert, Zu der Lehre der Antisepsis. (Berl. klin. Wochenschr. 1889. S. 789.)
— Die Wirkung des Sublimats auf Milzbrandsporen. (Deutsch. med. Wochenschr. 1891. S. 797, 825, 1065.)

Kitasato, Experimentelle Untersuchungen über Tetanusgift. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 10. S. 267.)
— Ueber den Tetanusbacillus. (Ibid. Bd. 7. S. 225.)

Koch, Ueber Desinfektion. (Mitt. a. d. Kais. Gesundheitsamt. Bd. 1. 1881. S. 234.)

Kral, Referat über Sormani, Ancora sui neutralizzanti del virus tetanigeno, e sulla profilassi chirurgica del tetano. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 7. S. 449.)

Krönig, B., u. St. Paul, Die chem. Grundlagen der Lehre von der Giftwirkung und Desinfektion. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 25. 1897. S. 1.)

Laubenheimer, Phenol und seine Derivate. (Habilitationsschr.) Gießen. 1909.

Tizzoni und Cattani, Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie. Bd. 28. S. 41.

Teratologische Studien an Pferdebandwürmern.

Von Dr. **Rudolf Becker** (Uelzen) in Neukirchen.

Mit 6 Figuren im Text.

Eine umfassende morphologische und histologische Untersuchung der Bandwürmer des Pferdes in den Jahren 1911—1919 gab mir Gelegenheit, den Formenreichtum und die Variationsmöglichkeiten bei dieser Cestodengruppe genauer kennen zu lernen. Die folgende Beschreibung kann naturgemäß keinen Anspruch darauf erheben, eine erschöpfende Darstellung aller vorkommenden Abweichungen von der Norm zu sein; sie will nur Anregung geben zu weiterer Durchforschung des in Schlachthöfen ohne große Schwierigkeiten zu beschaffenden Materials. Auf diesem Wege wäre es vielleicht möglich, wichtige Fragen wie die Art der Entwicklung dieser Parasiten, die Bedeutung steriler und überzähliger Bandwurmglieder u. a. zu klären.

Schon aus jener Zeit, als der Ehrgeiz der Helminthologen darin zu bestehen schien, recht viele neue Arten von Eingeweidewürmern aufzufinden und zu benennen, liegen einige Angaben über Abweichungen in der äußeren Form der Pferdebandwürmer vor und wurden zum Teil auch richtig gedeutet [vgl. Pallas (1781), E. Blanchard (1848), Dujardin 1845)]. Die genaueren Untersuchungen von Kahane (1880) und Scheibel (1895) lenkten die Aufmerksamkeit mehr auf Besonderheiten an den einzelnen Proglottiden, die bei anderen Cestodengruppen schon lange Zeit bekannt waren. Eine Zusammenstellung darüber gibt Braun (1894—1900), weitere Untersuchungen liegen vor von Child (1900, 1902) und Brandes (1899); die letzte über Bothriocephaliden ist von Grohmann (1906) vorgenommen worden.

Mein Material entstammt zum großen Teil den Sammlungen des Zoologischen Museums in Gießen und wurde mir von dem Direktor desselben, Prof. Dr. J. W. Spengel, bereitwilligst zur Verfügung gestellt. Eine größere Anzahl von Exemplaren sandten mir auf meine Bitte die Direktoren mehrerer deutscher Schlachthöfe; weiterhin hatte ich auf dem östlichen Kriegsschauplatze vielfach Gelegenheit, Bandwürmer bei Pferden zu sammeln.

Anoplocephala magna (Abildgaard).

Ganz beträchtlich sind die Schwankungen in der Größe der einzelnen Exemplare bei diesem größten Pferdeparasiten, wobei auch die verschieden starke Wirkung der Konservierungsflüssigkeiten zu beachten ist. Es gibt Tiere mit nahezu 1000 Gliedern, welche bis 1 m lang werden, und solche von nur 15 mm Länge, jedoch finden sich niemals solche Extreme nebeneinander bei den gleichen Wirtstier. Am häufigsten sind Tiere von durchschnittlich 10—20 cm Länge offenbar deshalb, weil man die kleinen leicht übersieht, die größeren wohl frühzeitig spontan abgehen, oder durch Abführmittel mitabgetrieben werden. Im allgemeinen sind die kleinen Tiere mit weniger als 150 Gliedern als junge, unentwickelte Exemplare anzusprechen.

Im Gesamthabitus unterscheiden sich jugendliche Tiere nur dann erheblich von älteren, wenn ihr „steriles Endstück“ erhalten geblieben ist. Dieses beginnt mit einer lanzettlich zulaufenden Uebergangsstelle und besteht aus einer Anzahl quadratischer, fast gleichgroßer Glieder, die sich durch ihr geringes spezifisches Gewicht — sie schwimmen oben — und durch stärkere Fältelung vor den übrigen Gliedern auszeichnen.

Anders ist das Verhalten der zur Erzeugung der Geschlechtsprodukte bestimmten Proglottiden. Hier sind Abweichungen von der Norm fast in jedem Exemplare anzutreffen, und zwar meist sogar mehrmals wiederkehrend.

Scheibel (1895) geht auf die Tatsache, welche schon Zeder (1800) beobachtete, etwas näher ein. Zeder stellte fest, daß einzelne Glieder eine geringere Breite haben als die benachbarten, und daß die Bildungen alternieren. Scheibel jedoch erklärt diese Regel für ungültig, er bestreitet sowohl das Vorkommen von regelmäßigen Intervallen zwischen den Mißbildungen, als auch das regelmäßige Abwechseln von rechts und links dabei.

Tatsächlich liegen sie in ganz unregelmäßigen Abständen, das eine Mal häufiger beieinander, andere Male recht vereinzelt. Wenn ich im folgenden etwas genauer auf diese Erscheinungen eingehe, so kann ich mich dabei auf eine Reihe auserlesener Totalpräparate stützen, die mit Karmin gefärbt und nach der Quetschmethode hergestellt wurden.

Maßgebend für die Art der Mißbildungen ist nach Grohmann (1906) das Verhalten des hinteren Proglottiswulstes. Dies gilt auch für A. magna; jedoch so reichhaltig ist hier die Variationsmöglichkeit nicht wie bei der primitiveren Cestodengruppe der Bothriocephaliden.

Fig. 1.

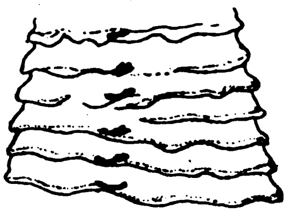


Fig. 2.

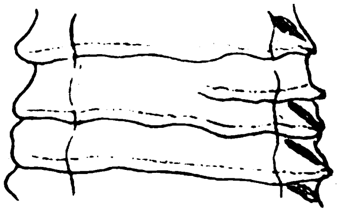


Fig. 3.

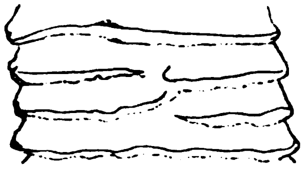


Fig. 1, 2. Anoplocephala magna. Unvollständige Abgrenzung des hinteren Proglottiswulstes.

Fig. 3. Anoplocephala magna. Spiralbildung des hinteren Proglottiswulstes.

Weder „Bifurkation“ noch „Fensterbildung“ beobachtete ich, ebensowenig Aenderungen in der Lage der Geschlechtsorgane, etwa „Inversion“.

Dagegen läßt sich oftmals eine mangelhafte oder unregelmäßige, in Form von Kerben, Zacken oder Läppchen verlaufende Abgrenzung des Proglottiswulstes konstatieren als Ausdruck einer geringgradigen Anomalie. Diese tritt dann zumeist auf beiden Flächen, der dorsalen und ventralen, in gleicher Weise hervor (vgl. Fig. 1—4). Dabei kann es vorkommen, daß sich bei unvollständiger Wulstbildung der eine freie Bogen oder sogar beide durch einen nach vorn gerichteten Verlauf mit dem vorhergehenden Proglottiswulst verbinden. Derartige Unterbrechungen der äußeren Gliederung wiederholen sich oft mehrmals hintereinander auf der gleichen Fläche, so daß dadurch ein verschieden langer, gerader Streifen ohne Gliederung erscheint, der in der Längsrichtung des Bandwurms verläuft und sich wegen der ganz normalen Beschaffenheit der Gegenseite offenbar als Folge einer voraufgegangenen Beschädigung in tangentialer Richtung erweist. Die Wunde hat sich ohne neue Wulstbildung glatt geschlossen (s. Fig. 4, Glied 2—6).

Andere Male sind je zwei benachbarte Proglottidenränder unterbrochen und streben ungefähr in der Mitte einer kreuzweisen Verbindung zu, ohne sich aber völlig zu treffen, oder nur der eine von ihnen vereinigt sich wie vorhin, so daß nunmehr von dem Wulst eine aus zwei Umgängen bestehende Spirale beschrieben wird, eine Erscheinung, welche sich an dem betreffenden Exemplar noch einige weitere Male wiederholen kann. Dabei bleibt auf alle Fälle die innere Struktur der Glieder ganz normal (vgl. Fig. 3, Glied 2 und 3).

Fig. 4.

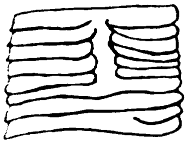


Fig. 5.

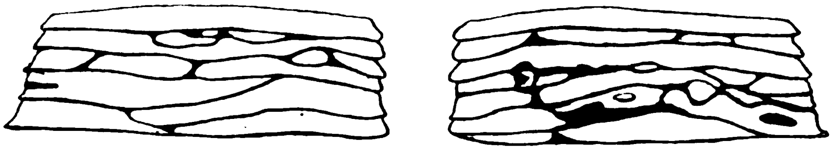


Fig. 4, 5. **Anoplocephala magna.** Interkalierte Glieder.

Der am häufigsten vorkommende abweichende Befund bei A. **magna** besteht in dem Auftreten **eingeschalteter** (sog. „interkalierter"), **unvollständiger Glieder**, die sich meistens bis zur Mitte von links oder rechts her zwischen je zwei vollständige Proglottiden einschieben. Manchmal sind die eingeschalteten Stücke nur schmal, in anderen Fällen nehmen sie hingegen $^3/_4$ oder mehr der Breite ein (s. Fig. 1, 4, 5). Liegen sie am Rande der Geschlechtsöffnungen, so pflegt auch der Genitalapparat in ihnen entwickelt zu sein, und zwar in verschiedenem Grade der Vollständigkeit: bald nur der Cirrusapparat und die Vesicula seminalis, bald außerdem das Receptaculum seminis und die Vagina; in manchen Fällen kommt es sogar zur Ausbildung aller Geschlechtsorgane, nur sind Uterus und Keimstöcke durch den geringen, ihnen zur Verfügung stehenden Raum in ihrer Ausdehnung merklich eingeschränkt. Liegt hingegen eine derartige Mißbildung auf der entgegengesetzten Seite, so ist darin nichts vom Geschlechtsapparat anzutreffen, nur Nerven und Gefäße liegen im Parenchym eingebettet (vgl. Fig. 6).

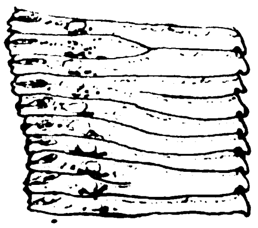


Fig. 6. **Anoplocephala magna.** Abnorme Entwicklung der Geschlechtsorgane.

Die so entstehende Unregelmäßigkeit in der Länge des einen Proglottidenseitenrandes erfährt nun oft einen Ausgleich durch alternierendes Auftreten einer zweiten Interkalation in geringer Entfernung hiervon, wie es **Zeder** beschrieb, oder es wird dies, seltener, erreicht durch Abkürzung der benachbarten Seitenränder. Findet kein Ausgleich statt, so kommt an dieser Stelle eine leichte Krümmung in der Gliederkette zustande, und erst später erfolgt ein entsprechender Ausgleich durch Alternieren.

Der freie Rand des Wulstes pflegt nun entweder in die dorsale resp. ventrale Fläche, meist in der Mitte, auszulaufen oder, was das Häufigere ist, er biegt nach vorn um und vereinigt sich mit dem hinteren Rande der vorhergehenden Proglottis unter sanftansteigendem Bogen oder gar mit scharfer Abknickung. Es kommt sogar vor, daß mehrere, 2, 3, ja 5 unvollständige Proglottiden hintereinander auf derselben Seite eingeschaltet sind. Nicht selten ist diese Verbildung nur einseitig, so daß eine Zurückführung auf die genannten Typen nicht möglich ist. Auf Fig. 5 sehen wir 6 solche mißgestaltete Proglottiden hintereinander, ihre Anzahl läßt sich nur am Rande bestimmen, aber nicht mehr in der Mitte der Fläche. Es bestehen dort die mannigfachsten Absprengungen, Inseln und Teilungen, z. B. einmal teilt sich der Proglottiswulst, ein Stück läuft gerade weiter, das andere endigt blind, und später findet an ersterem nochmals eine ähnliche Teilung statt, jedoch laufen diesmal beide Enden kurz vor dem Rande bogenförmig zusammen und bilden somit eine förmliche Schlinge.

Als Uebergangsformen zwischen Interkalation und unvollständiger Wulstbildung könnte man die häufig mitten auf einer Fläche auftretenden Läppchenbildungen auffassen, wie sie in Fig. 1, 5 deutlich sind.

Mißgestaltete Geschlechtsorgane sind bei A. magna ganz selten und auch dann stets mit solchen der Proglottiden selbst verbunden (vgl. Fig. 6, Glied 2 u. 9); dabei scheidet eine Lageänderung, wie oben erwähnt wurde, ganz aus, ebenso mehrfache (doppelte, dreifache) Bildung, hingegen kommt ein Rudimentärwerden des ganzen Apparates oder nur einzelner Teile zustande, welches bis zum völligen Schwund dieser Organe führen kann. Dies ist bei kleinen, weniger als $^1/_4$ der normalen Gliedbreite einnehmenden, interkalierten Gliedern am häufigsten der Fall, wenn diese nämlich am agenitalen Rande liegen (ausnahmsweise in Fig. 2, Glied 2).

Entsprechend den individuellen Größenunterschieden finden sich auch solche am Skolex, dessen Größe zwischen 2 und 5 mm schwanken kann. Dabei bleibt die allgemeine Form und die Ausbildung der Falten von Anfang an konstant. Etwaige Verschiedenheiten in der Richtung der vier Saugnäpfe ergeben sich aus der Art der Konservierung, je nachdem nämlich die Abtötung der Tiere allmählich, unter Erschlaffung der reichlich vorhandenen Muskulatur oder plötzlich, unter rascher Kontraktion derselben erfolgte. Der für die Art charakteristische kragenförmige Halswulst ist bei jungen Tieren noch wenig ausgeprägt, fehlt jedoch niemals ganz.

Anoplocephala perfoliata (Goeze).

Das Durchschnittsmaß ansgewachsener Exemplare — etwa 60 mm — findet man nicht selten überschritten bis auf 80 mm, während anderseits Tiere von nur 5—7 mm Länge und mehr gelblicher Färbung vorkommen.

Daß es mehrere Formen gibt, geht schon aus den Beschreibungen älterer Autoren und aus der Abbildung bei Pallas (1781) hervor, auch Kahane (1880) stellt zwei Hauptformen fest: eine jugendliche, lanzettförmige und eine ältere, abgestutzte. Neuerdings hat Pillers (1911) eine größere Anzahl Typen aufgezählt. Bei Durchmusterung eines Materials von mehr als 250 Exemplaren aus 14 verschiedenen Befunden traf ich im ganzen 4 verschiedene Formen an, und zwar bildete die Mehrzahl (50 Proz.) solche, die hinten 10 bis 15 mm breit ausliefen und hier aus völlig reifen Gliedern bestanden, während weiter vorn unentwickelte Proglottiden waren. Andere hatten eine geringe Breite und liefen in ihrem letzten Drittel plötzlich spitz nach hinten zu. Dieses Endstück ließ sich sehr leicht von dem übrigen Teil abtrennen und besaß, da vollkommen steril, ein geringes spezifisches Gewicht. Außer diesen fanden sich besonders lange schmächtige Tiere mit sehr breiten, faltigen Proglottisrändern. Entsprechend ihrem durchscheinend weißen Aussehen und der geringen Schwere ergab sich bei ihnen völlige Sterilität. Ebenfalls frei vom Geschlechtsapparat waren die lanzettlichen Zwergformen von 5—12 mm Länge.

Trotzdem kürzlich erst Schaefer (1913, p. 588) dagegen Zweifel äußert, möchte ich die letzgenannten Formen als Jugendstadien der zuerst beschriebenen auffassen, wie es bereits von E. Blanchard (1848) geschah. Die Entwicklung der Genitalien erfolgt hier eben in einem späteren Alter und nicht gerade immer in genau gleichem Abstande vom ursprünglichen Hinterende, ja es ist möglich, daß sie nicht selten ganz ausbleibt oder vielleicht nur periodisch eintritt.

Mißgestaltete Proglottiden pflegen selten zu sein, ich habe nur

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

folgende drei Fälle beobachtet: Eine Abweichung bestand darin, daß zwei aufeinanderfolgende Glieder an ihrem einen Rande um etwa 3 mm schmäler waren als die übrigen. Somit bildet der im allgemeinen gleichmäßig zackige Rand der Strobila hier eine deutliche Lücke, wo der Verlauf ein gerader war. Als zweiter Fall ist die bei Cestoden allgemein verbreitete Unterbrechung des hinteren Proglottiswulstes zu nennen. Hierfür habe ich zwei Belege. Beide Male läuft das freie Ende in der Mitte der einen Fläche bogenförmig nach vorn hinaus, während auf der anderen Fläche die Begrenzung eine vollständige ist. Nur einmal habe ich eingeschaltete Halbproglottiden in einem sterilen Endstück angetroffen, wo ein verändertes Verhalten von Geschlechtsorganen nicht in Frage kommen kann. Nicht selten findet man hingegen besonders an sterilen Gliedern Verwachsungen mehrerer in der Längsrichtung der Falten, die auf eine stattgehabte Verletzung hinweisen.

Der 0,5—2,8 mm große, würfelförmige Skolex besitzt immer vier nach hinten gerichtete Anhangslappen, im übrigen aber keine Falten. Bei jungen Tieren sind die Kopflappen durch Einkerbungen am hinteren Rande und stärkere Faltenbildung in den Seitenteilen nur angedeutet.

Die ersten Proglottiden legen sich in der Regel wie bei A. mamillana bogenförmig um den Skolex herum, nur selten ragt er frei aus ihnen hervor, ein ungegliederter Halsteil fehlt aber stets. Einen besonders merkwürdiger Fall, dreikantiger Kopf mit 6 Saugnäpfen an einem dreieckigen Exemplar, hat Neumann (1890) beschrieben.

Anoplocephala mamillana (Mehlis).

Die Größenschwankungen bewegen sich zwischen 50 und 4 mm, der Durchschnitt ist etwa 25 mm. Die Zahl der Proglottiden beläuft sich auf 30 bis höchstens 50. Als größtes Maß für den Skolex fand ich 0,8 : 1,0 : 1,2 mm (Länge : Breite : Tiefe), die Gestalt gleicht einem kurzen Zapfen, der sich mit seinem hinteren schmäleren Teil in die ersten 8 bis 12 Glieder einsenkt, noch mehr wie bei A. perfoliata. Ein sog „Hals“ fehlt daher in der Regel, welches Merkmal Anlaß zur Benennung „mamillana“ gegeben hat. Jedoch gerade in diesem Punkte kommen hin und wieder Abweichungen vor. Im Jahre 1899 wurde von Herrn Dr. Garth, Direktor des städt. Schlachthauses in Darmstadt, dem Zool. Institut zu Gießen eine erhebliche Anzahl (mehr als 50) von Bandwürmern überwiesen, die in Größe und Gesamthabitus fast ganz mit A. mamillana übereinstimmten, sich aber in der Gestalt des Skolex und der ersten Proglottiden wesentlich davon unterschieden. Ein ganz entsprechender Befund wurde ein paar Jahre später von Herrn Dr. Knell aus Mainz eingeschickt. Bei all diesen Exemplaren waren die auf den Skolex unmittelbar folgenden 5—6 Proglottiden schmal und durchaus gerade; der Skolex ragte demnach frei hervor und erschien wie ausgestreckt. Dieses Verhalten war so auffallend, daß man an das Vorliegen einer besonderen Art (A. porrecta) denken konnte. Einiges Material zu einer genaueren anatomischen Vergleichung wurde schon von Dr. Bartels im Jahre 1902 gesammelt. Meine Untersuchungen 1912 bis 1914 ergaben eine völlige Uebereinstimmung beider Formen bis in histologisch-embryologische Details. Weitere Bestätigungen dieser Tatsache waren Befunde, die ich 1916 mehrfach in der Gegend von Wilna antraf. Hier kamen Exemplare mit ausgestrecktem und solche mit mehr oder weniger eingezogenem Skolex nebeneinander in demselben Wirte vor. Die genannte Aenderung im Habitus ist also allem Anscheine nach lediglich auf einen verschiedenen Kontraktionszustand der Muskulatur zurückzuführen und nicht eine geographisch beschränkte Varietät, wie man schließlich noch vermuten könnte. Der erstgenannte Befund stammte nämlich von einem kurz vorher nach Deutschland eingeführten ungarischen Pferde. Nach brieflicher Mitteilung von Herrn Prof. Dr. v. Rátz-Budapest kommt jedoch A. mamillana im ungarischen Zuchtgebiete nicht vor. Schon Dujardin (1845), der in seiner Nomenklatur A. mamillana mit A. perfoliata verwechselt, bildet ein obigem entsprechendes Exemplar ab (vgl. Taf. XI, Fig. G, 8) und gibt als Erklärung dazu: „Tête et partie antérieure du même Taenia, ayant le cou ou les articles antérieurs très-étirés, et par conséquent la tête plus large que les premiers articles du corps“. Für eine geringere Kontraktion der Muskeln spricht endlich auch die gerade, scharf gesägte Form des Proglottidenrandes, während dieser bei der gewöhnlichen Form abgerundet ist, und endlich die mehr bläulich-opake Färbung der Tiere.

Andererseits gibt es Formen mit außerordentlich starker Kontraktion entweder nur im mittleren Teil der Proglottiden, welcher dann beiderseits wie eine schmale Leiste in der Längsrichtung der Flächen verläuft, oder das ganze Tier nimmt eine schmale, im Querschnitt rundliche bis dreikantige Form an, wobei aber am ausgestreckten Skolex keine Veränderungen auftreten. Vollständige Exemplare, d. h. solche, bei denen das lanzettliche Ende erhalten ist, sind selten, da dies leicht abbricht. Bei jugendlichen Tieren sind nur 1 oder 2 sterile Endproglottiden vorhanden, die bedeutend länger als breit sind. Zu unterscheiden hiervon sind die stark in Längsfalten gelegten, oft mit Anhangszipfeln versehenen Endglieder großer Tiere, die ihren Inhalt — die beschalten Embryonen — durch Platzen der Cuticula entleert haben, also ursprünglich nicht steril waren. Vorstadien hiervon erkannte ich an einigen reifen Proglottiden, wo der Vorderrand mehrere runde Absprengungen und Einrisse in der Cuticula aufwies, der Inhalt war noch vorhanden.

Als einzige Mißbildung hatte ich unter mehreren Hundert Exemplaren ein einziges Mal an einem jugendlichen Tier mit zwei sterilen Endgliedern eine Umkehrung des Geschlechtsapparates beobachtet. Der Cirrus des viertletzten Gliedes lag hier auf der rechten Seite. Es war also eine Alternation, aber keine Inversion vorhanden.

Literatur.

Braun, M., Cestodes (Bronns Klass. u. Ordn. im Tierreich). Bd. 4 1894—1900 (enthält sämtl. ältere Literatur). — Grohmann, W., Die Abnormitäten in den Proglottiden der Cestoden, insbes. der Bothriocephaliden. [Diss.] Gießen 1906. — Pillers, A. W. N., Some commun forms of the equal perfoliate tapeworm. (The veterin. Journ. Vol. 67, 1911. p. 521—524.) [Mir nicht zugänglich]. — Schaefer, R., Die Entwicklung der Geschlechtsausführwege bei einigen Cestoden usw. (Zool. Jahrb. Bd. 35. 1913. Anat. S. 583—621).

Nachdruck verboten.

Ueber drei Fälle von Infektion mit echten, streng anaëroben Streptotricheen.

[Aus der II. Chirurgischen Abteilung (Vorstand: Prof. Sick) und dem Pilzforschungsinstitut (Vorstand: Prof. Plaut) im Allgem. Krankenhaus Eppendorf.]

Von **Rahel Plaut**, Hamburg.

Mit 5 Textfiguren.

Die Infektion des Menschen mit echten, anaëroben Streptotricheen gilt für eine seltene Erkrankung.

Nachdem Cohn 1874 zuerst Pilzmassen in Tränenröhrchenkonkrementen bestimmt und als Streptothrix Foersteri benannt hatte, gelang 25 Jahre später Silberschmidt (11) zum erstenmal die Kultur. Er züchtete in einer Reihe von Fällen aus Tränenröhrchenkonkrementen teils aërobe, teils fakultativ anaërobe und streng anaërobe Pilzstämme heraus.

Seitdem sind echte, streng anaërobe Streptothrichen fast ausschließlich aus Tränenröhrchenkonkrementen gezüchtet worden, während man fakultativ anaërobe auch in der Lunge, in Mundbodenabszessen u. dgl. nachgewiesen hat.

Die einzige Beschreibung eines echten, streng anaëroben Streptothrix, der nicht aus den Tränenröhrchen stammt, findet sich bei Neshczadimenko (5). Dieser Autor züchtete seinen Pilz aus einem Bauchabszeß und betrachtete ihn als eine neue Art von Streptothrix. Der Schilderung nach verhält sich der Mikroorganismus genau wie die Streptotricheen der Tränenkanälchen.

Ich möchte hier über 3 Fälle berichten, in denen es uns gelungen ist, bei chronischen Entzündungen echte, streng anaërobe Streptothricheen als Erreger nachzuweisen und zu züchten.

Die Tatsache, daß die 3 Fälle in der relativ kurzen Zeit von 4 Wochen dem Pilzforschungsinstitut zugingen, läßt mich vermuten, daß diese Erreger wohl nicht so selten sind, wie man glaubt, daß aber im allgemeinen bei Untersuchung von chronisch entzündlichem Material zu wenig auf Pilzfäden geachtet wird. So haben wir einen Fall gesehen, wo der bakteriologische Untersucher die Möglichkeit einer Streptothrix-Infektion gar nicht in Betracht gezogen hatte, wohl weil die charakteristischen Körnchen im Eiter zuerst sehr unscheinbar waren und die angelegten Kulturen, die sich nur auf aërobe Verhältnisse bezogen, steril blieben.

Selbst wenn man an die Möglichkeit einer Streptothrix-Infektion denkt und die Körnchen untersucht, werden die ungemein feinen Fädchen leicht übersehen. Sie können im ungefärbten Präparat für Fibrinfäden gehalten werden, im gefärbten für feine Bazillen, die zu Fäden ausgewachsen sind.

Fall I verdanke ich Herrn Prof. Sick.

Pat., ein 62-jähr. Fuhrmann, hatte früher mit Rinderfellen zu tun gehabt, gab aber auch auf Befragen an, öfter an Gras oder Getreide gekaut zu haben. Seit Dezember 1918 wurde ihm das Oeffnen des Mundes schwer. Bald darauf bemerkte er eine Geschwulst vor dem linken Ohr, die ein lästiges Spannungsgefühl verursachte. Wenige Tage vor der Aufnahme im Eppendorfer Krankenhaus verlor er das Gehör auf dem linken Ohr.

Lokalbefund bei der Aufnahme:

Die Gegend der linken Parotis wird in ganzer Ausdehnung von einer flachen Geschwulst eingenommen, die auch das linke Unterkiefergelenk einbegreift und sich prall hart anfühlt, keine Fluktuation. Die Geschwulst ist mit der Unterlage verwachsen, hängt aber weder mit der Mundschleimhaut, noch mit der bedeckenden Haut zusammen; letztere ist darüber frei beweglich, von normaler Beschaffenheit. Der Mund kann nur fingerbreit geöffnet werden. Die Zähne sind zum Teil kariös. Regionäre Lymphdrüsen nicht geschwollen. Bei der Inzision am 10. März 1919 entleerte sich dünnflüssiger Eiter mit kleinsten, zum Teil kaum wahrnehmbaren Körnern, die bei Sick den Verdacht auf Aktinomykose erregten.

Unter der üblichen Wundbehandlung und Jodkali gingen im weiteren Verlauf bald alle Beschwerden zurück, und der Kranke wurde auf seinen Wunsch in ambulante Behandlung entlassen.

Der Eiter, den wir zur Untersuchung erhielten, war dünnflüssig, gelb und enthielt zahlreiche Körnchen von der Grenze der Sichtbarkeit bis zu Sandkorngröße.

Zerdrückte man ein solches Körnchen zwischen 2 Objektträgern und betrachtete es mit der Lupe, so ließ sich ein dunkles Zentrum erkennen, das sich nach außen in einen helleren Hof auflöste. Dies Verhalten ist für Konglomerate von Streptotricheen charakteristisch. Mit starker Vergrößerung löste sich das Korn an der Peripherie in ein Netzwerk von feinsten, innig miteinander verfilzten und verschlungenen Fäden auf, zum Teil mit leicht verdickten Enden. Daneben waren zahlreiche schlanke Stäbchen. Actinomyces-Drusen fehlten im Eiter. Die innere Struktur eines solchen Körnchens zeigt Fig. 1 und 2. Das Präparat ist durch Schneiden eines Tränenröhrchenkonkrements gewonnen, bietet aber genau dasselbe Bild wie unser Fall.

Bei der Färbung nach Gram zeigte sich die für Streptothricheen typische Gliederung in grampositive und gramnegative Fragmente. Säurefestigkeit bestand nicht.

Mit diesen Körnchen wurden aërobe und anaërobe Kulturen angelegt. Und zwar wurden im Verlauf der Untersuchung folgende Nährböden angewandt:

A. Aërob auf:
1) Zuckerbouillon
2) destilliertes Wasser
3) Milch
4) Gelatine
5) Serumplatte
6) Blutagar
7) 1-proz. Traubenzuckeragar.

B. Anaërob auf:
1) Tarozzibouillon
2) Reagenzglasschüttelkulturen mit 1-proz. Traubenzuckerleberagar
3) Gußplatte mit Traubenzuckeraszitesagar in Pyroschalen
4) Gewöhnliche Blutagar- und Traubenzucker-Agarplatten in Pyroschalen
5) Blut- und Traubenzucker-Agarplatten unter dem Rezipienten der Luftpumpe
6) Pyroschalen unter der Luftpumpe
7) Bouillon und Kartoffel unter der Luftpumpe.

Sämtliche Kulturen im Brutofen, mit Ausnahme von zwei Röhr-

Fig. 1.

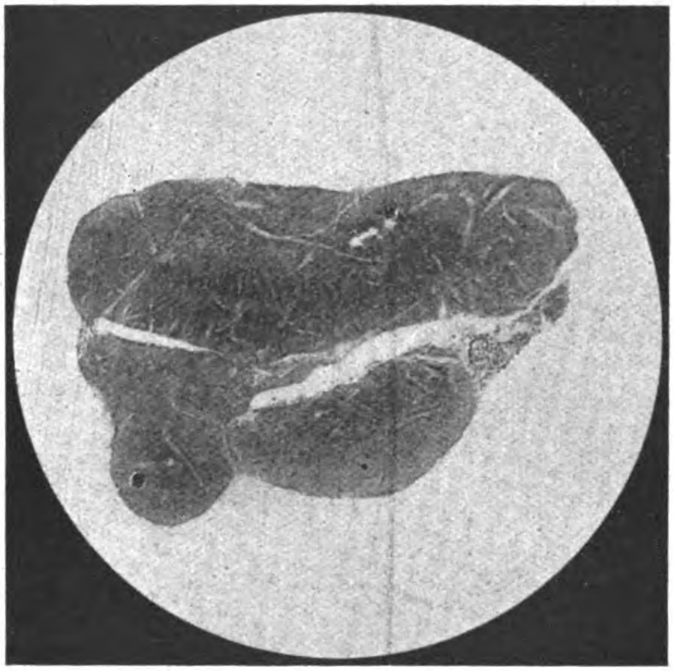


Fig. 2.

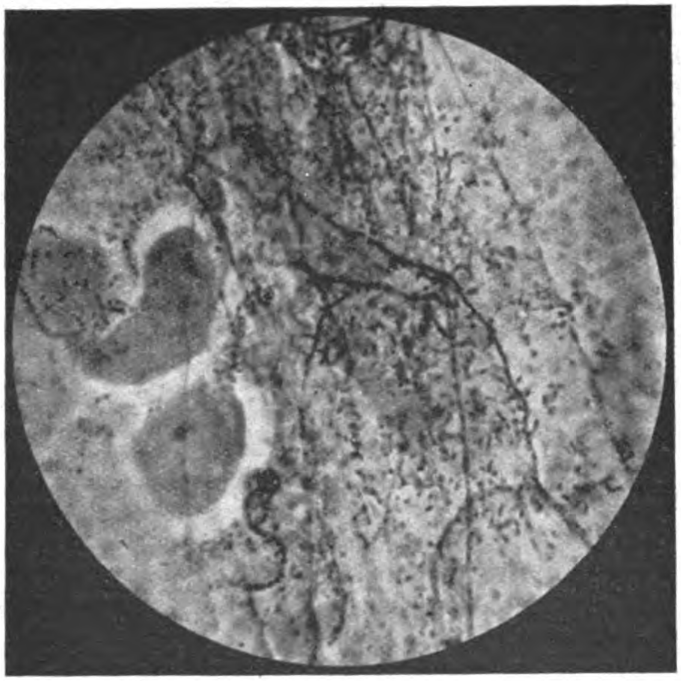


Fig. 1. Durchschnitt durch ein Tränenröhrchenkonkrement (Zeiss A. Ocul. 2).

Fig. 2. Dasselbe Präparat mit starker Vergrößerung. Zeiss Oelimmers. 12. Oc. 2. Man erkennt deutlich die charakteristischen Pilzfäden.

chen mit Bouillon und Aqua dest., die im Eisschrank aufbewahrt wurden, und der Gelatine. Die ersten Kulturen wurden verunreinigt durch eine Mischinfektion mit Streptokokken, die den Streptothrix überwucherten. Später haben wir die Körnchen vor der Verwendung 6mal in sterilem destillierten Wasser abgespült.

Nur in der Tarozzi-Bouillon behielt der Streptothrix von vornherein die Oberhand. Ueberhaupt hat dieser Nährboden sich als der zuverlässigste erwiesen, um einen Streptothrix zunächst einmal zum Anwachsen zu bringen; das Weiterimpfen ist dann weniger schwierig. Nach 12 Tagen bei 30—33° C[1]) zeigte sich in der Tarozzi-Bouillon eine deutliche Trübung. Diese war nicht diffus, vielmehr war die Bouillon durchsetzt von massenhaften kleinsten Körnchen, die sich zwischen den Leberstückchen zu größeren, bröckligen Massen vereinigten. Mikroskopisch bestanden sie aus langen Myzelfäden, die etwas dicker als im nativen Präparat, aber in derselben Weise fest miteinander verschlungen und zum Teil mit leichten Endanschwellungen versehen waren. Echte Verzweigungen waren selten. Bei Gram-Färbung zeigte sich wieder die Fragmentierung, auch zerfielen die Fäden vielfach in einzelne schlanke Stäbchen, die meist aus einem gramnegativen Mittelstück und 2 grampositiven Polen bestanden.

Aus dieser Kultur auf ein 2. Tarozzi-Röhrchen übergeimpfte Keime hatten nach 8 Tagen am Grunde des Reagenzglases ein weißgelbliches Sediment gebildet, das beim Schütteln die Bouillon trübte. Dieser Bodensatz bestand aus einer lockeren Masse, in der einzelne Körner eingebettet waren. Die Körner waren von Stecknadelkopfgröße, ziemlich hart, von glatter Oberfläche und beim Zerdrücken fest zusammenhaftend. Sie ähnelten den Körnern im (nativen) Eiter, bestanden aber mikroskopisch nicht aus Fäden, sondern aus sehr intensiv nach Gram färbbaren, diphtheriebazillenähnlichen kurzen Gliedern mit Endanschwellungen (Fig. 3). In den weitergeimpften Kulturen bildeten sich nur noch diese Körner; Fadenwachstum wurde nicht mehr beobachtet.

Fig. 3.

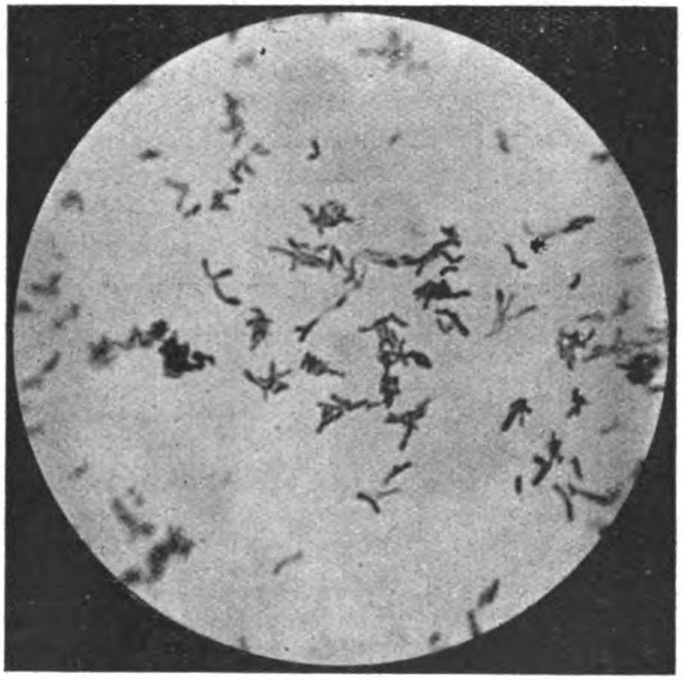


Fig. 3. Diphtherieähnliche Stäbchen. (Vergr. 1 : 1000).

Auch in der ältesten Kultur traten Veränderungen ein. Hier bestanden die Fäden ursprünglich wie im nativen Präparat aus grampositiven und gramnegativen Segmenten. Allmählich verkleinerten sich die grampositiven Teile mehr und mehr. Nach 4 Wochen fanden sich nur noch vereinzelte grampositive Körner in dem ungefärbten Myzel. Außerdem entwickelten sich in den Enden plumpe, kolbige Verdickungen, wie sie schon Wolf und Israel (14) bei ihren alten Actinomyces-Kulturen beobachtet und mit den Drusen im Tierkörper verglichen haben.

---

[1]) Da wir infolge des Kohlenmangels mit schlechtem Gasdruck arbeiten mußten, waren starke Schwankungen der Temperatur nicht zu vermeiden, höhere Temperaturen als 33° C nicht zu erhalten. Darum ist auf die Wachstumsdauer kein Wert zu legen.

Schließlich verschwanden die Fäden ganz. Es entwickelten sich aber am Grunde die oben beschriebenen, aus diphtheroiden Bazillen zusammengesetzten Körner, so daß die 1. Kultur nach einem Vierteljahr von ihren Abkömmlingen nicht mehr zu unterscheiden war. Diese Körner haben sich bis jetzt (August 1919) unverändert erhalten. Außer der Tarozzi-Bouillonkultur gelang noch eine Schüttelkultur mit 1-proz. Traubenzuckerleberagar nach der von Axenfeld (1) beschriebenen Methode.

Die gewaschenen, in Bouillon zerriebenen nativen Körnchen waren in den flüssigen Agar versenkt und bis zum Erstarren des Nährbodens geschüttelt worden. Nach 6 Tagen zeigten sich in einer ringförmigen Zone, $^1/_2$ cm unter der Oberfläche, weiße, punktförmige Kolonien, die sich später zu äußerst zierlichen, bald mehr eckigen, bald fein verzweigten Gebilden bis zu der Größe eines Hirsekorns entwickelten und dann im Wachstum sistierten.

Bei der Untersuchung derartiger Agarschüttelkulturen empfiehlt es sich, die Kolonie auszuschneiden, und zunächst ungefärbt unter dem Mikroskop anzusehen. Man kann sie dann sofort von banalen Verunreinigungen daran unterscheiden, daß sie zwischen Deckglas und Objektträger nicht auseinanderfließt, sondern infolge des festen Ineinanderverschlungenseins der Keime ihre Form behält. Bei der Färbung muß man die Kolonie dann mechanisch oder durch Aufdrücken einer glühenden Drahtschlinge auf das Deckgläschen aus dem Agar herauszulösen suchen, weil er sich sonst mitfärbt. Dabei geht die Gestalt der Kolonie verloren und die Myzelfäden werden zerrissen.

Die mikroskopische Untersuchung ergab nun, daß die Kolonien im Agar aus feinsten, langen, gewundenen und miteinander verschlungenen Fäden bestanden mit spärlichen echten Verzweigungen. Dazwischen lagen einige schlanke Stäbchen und zahlreiche ovale, sporenähnliche Gebilde. Derartige lange Fäden, die der Kolonie eine feinverzweigte, sternförmige Gestalt verleihen, habe ich seitdem in keiner Agarkultur wieder bekommen. Auch hielten sie sich nicht lange. Nach 16 Tagen erschienen die Fäden bedeutend kürzer und schlechter färbbar; die Stäbchen hatten sich vermehrt, es gab viele Uebergangsformen zwischen den beiden. Nach $^1/_4$ Jahr waren keine Fäden mehr zu sehen. Die Kultur bestand nur noch aus grampositiven Kokken- und Stäbchenformen, die sich aber durch das Fehlen von Endanschwellungen, durch die Art ihrer Lagerung und durch ungleichmäßige Farbstoffaufnahme (grampositive Körnelung) von den typischen Diphtheroiden noch unterscheiden ließen. Die Weiterzüchtung auf demselben Nährboden gelang. In der 2. Generation siedelten sich die Kolonien nicht $^1/_2$ cm unter der Oberfläche, sondern in der Tiefe zwischen den Leberstückchen an.

Es mißlangen alle Versuche, den Stamm auf der Oberfläche eines Nährbodens zum Wachstum zu bringen, auch unter streng anaëroben Verhältnissen (Zeisslersche Platten im Vakuum), einerlei, ob wir die Körnchen aus dem Eiter oder Material aus einer Kultur benutzten.

Alle aëroben Kulturen blieben dauernd steril.

Auch der Tierversuch blieb negativ: Es wurden einer weißen Maus

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

2 ccm einer Körner enthaltenden Tarozzi-Bouillonkultur intraperitoneal eingespritzt. Das Tier blieb gesund. Bei der Sektion 4 Wochen später fanden sich keinerlei pathologische Veränderungen. Auch in den ziemlich großen, retroperitonealen Lymphdrüsen waren Reste des Pilzes nicht nachzuweisen.

Zusammenfassend ist über den Fall zu sagen, daß es sich um eine primäre Streptothrichomykose der Parotis, hervorgerufen durch einen Streptothrix aus der nach Foerster benannten anaëroben Gruppe gehandelt hat. Auf den Pilz werde ich unten noch zurückkommen. Ueber die Aetiologie der Erkrankung hat Söderlund[1] (13) Klarheit gebracht, indem er nachwies, daß mit Pilzen infizierte Fremdkörper, meist Getreidegrannen, durch den Speichelgang in die Drüse eindringen, und dort den Prozeß veranlassen. Bei den in der Literatur beschriebenen Fällen von Söderlund, Guttmann, Müller und Brüning hat es sich stets um Aktinomykose, nie um Streptothrichomykose gehandelt. Andererseits hat Majocchi (4) Konkremente im Ductus Whartonianus beschrieben, die den Tränenröhrchenkonkrementen völlig entsprachen. Züchtungen aus diesen Konkrementen waren zu seiner Zeit noch nicht gelungen. Jedenfalls wird man in Zukunft auf derartige Gebilde achten müssen. Daß auf diesem Wege eine isolierte Infektion der Speicheldrüse durch retrograden Transport infolge der Stauung entstehen kann, ist klar.

Fall II verdanke ich Herrn Oberarzt Dr. Oehlecker (Barmbeker Krankenhaus.)

Es handelte sich um einen 26-jähr. Chauffeur, der früher bei einem Tierarzt in Stellung gewesen war, und diesem oft bei Operationen geholfen hatte. Etwa 6 bis 7 Wochen vor der Aufnahme litt er an einer kleinen Zahnfleischentzündung und beginnenden Anschwellung am Unterkiefer. Bei der Aufnahme im Krankenhaus Bethanien fand sich in der Gegend des linken horizontalen Unterkieferastes ein hartes Infiltrat mit 2 hintereinanderliegenden, beinahe walnußgroßen Abszessen. Bei der Inzision am 10. April 1919 entleerte sich ein gelber Eiter, der den schon vorher ausgesprochenen Verdacht auf Aktinomykose noch verstärkte, weil er kleine, aus Körnern zusammengeballte Klümpchen enthielt. Uebliche Wundbehandlung und Gaben von Jodkali. Am 13. Mai 1919 geheilt entlassen[2].

In dem Eiter, der uns zur Untersuchung zuging, wurden typische Actinomyces-Drusen nicht gefunden. Auch in den ausgekratzten Granulationen, die in Serienschnitte zerlegt wurden, fanden sie sich nicht. Dagegen enthielten die Klümpchen aus dem Eiter massenhaft grampositive Stäbchen, vermischt mit langen Myzelfäden und Kokken. Es wurden dieselben Kulturmethoden angewandt wie bei Fall I.

Die Kultur gelang nur in Tarozzi-Bouillon, in Agarschüttelkultur und im Agarstich, wobei wieder Traubenzuckerleberagar verwandt wurde.

In der Tarozzi-Bouillon zeigten sich nach 6 Tagen kleinste Körnchen. Sie bestanden aus Leberstückchen, um die herum sich die diphtheroiden Bazillen angelagert hatten. Daneben fanden sich auch reichlich lange, fragmentierte Myzelfäden. Die Kultur verhielt sich später wie bei Fall I. Unter den Degenerationsformen, die darin auftraten, fielen besonders auf die schon von Wissmann beschriebenen, in ganzer Länge verdickten, doppelkonturierten Fäden mit blasser Mittelpartie. Nach $^1/_4$ Jahr waren die Körnchen zu hanfkorngroßen, bröckeligen, weißgelblichen Klümpchen angewachsen, die fest an der Oberfläche der Leberstücke hafteten und nur noch aus diphtheroiden Bazillenformen bestanden.

---

[1] Anmerkung während des Druckes. Inzwischen ist es Söderlund gelungen bei Speichelsteinen, in allen 20 untersuchten Fällen Streptotricheen nachzuweisen, deren Züchtung nicht einwandfrei gelang. Wir haben bei 2 Speichelsteinen seine Angabe bestätigt gefunden. Bei uns mißlang die Züchtung.

[2] Angaben von Herrn Dr. Oehlecker.

Im Agarstich entstanden 1 cm unterhalb der Oberfläche zahlreiche kleinste Kolonien, die den Stichkanal zylinderförmig umfaßten.

Die Schüttelkultur erschien nach 4 Wochen in den unteren Zweidritteln des Reagenzglases staubartig getrübt. Mit der Lupe betrachtet löste sich die Trübung in eine Unzahl weißer Kolonien auf.

Die Agarkolonien verhielten sich anders als im Fall I. Sie waren nicht fein verzweigt, sondern kompakt.

Bei der mikroskopischen Untersuchung im ungefärbten Präparat zeigte sich bei den kleinsten Kolonien das in Fig. 4 und 5 wiedergegebene Bild. Strahlenförmig auseinandergehende Aeste, die in kurzen Abständen echte Verzweigungen aussenden. An den Verzweigungsstellen sind die Aeste leicht verdickt und enthalten die zuerst von **Neukirch** (6) beschriebenen, stark lichtbrechenden Körnchen (Fig. 5).

Bei den älteren Kolonien ist das Zweigwerk so dicht, daß man den Eindruck eines kompakten, runden, bräunlich gefärbten Klumpens hat, aus dessen Peripherie man die Spitzen der Zweige herausragen sieht. Im gefärbten Präparat hatte man das typische Bild der diphtheroiden Bazillen vor sich.

Bei Fall III handelte es sich um ein pleuritisches Exsudat, das unserm Institut von Herrn Dr. **Peemöller** zur Untersuchung gebracht wurde.

Von der Klinik des Falles sei hier nur gesagt, daß der Kranke nach der Entleerung des streptothrichösen Empyems durch Rippenresektion genesen ist, und daß sich ein primärer Herd, etwa in der Lunge, von dem das Empyem ausging, nicht hat nachweisen lassen.

Fig. 4.

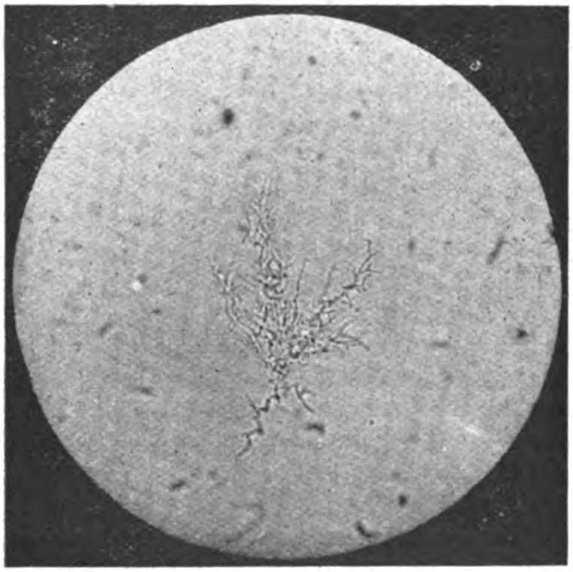


Fig. 5.

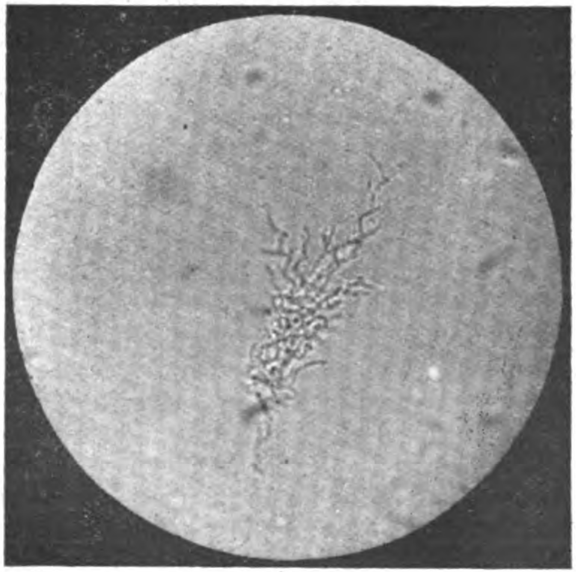


Fig. 4. Agarstichkultur von Fall II bei schwacher, Fig. 5 bei starker Vergrößerung.

Der uns zur Untersuchung überwiesene Eiter hatte einen ekelhaft buttersäureartigen Geruch; er war durch zersetzten Blutfarbstoff gelbbraun gefärbt und schied sich beim Stehen in einen gelben Bodensatz und eine schokoladenbraune, darüberstehende Flüssigkeit. In diesem Eiter schwammen zahlreiche, hirsekorngroße Körner, deren Farbenton zwischen schwarz und goldgelb variierte.

Mikroskopisch bestanden die Körner aus Konglomeraten von typischen Streptothrix-Fäden, vermischt mit Blutkristallen. Daneben waren massenhaft gramnegative, schlanke Stäbchen. Actinomyces-Drusen fehlten, doch ordneten sich stellenweise die Fäden mit ihren leicht verdickten Enden strahlig zu drusenähnlichen Gebilden an.

Die Körner wurden in der gewohnten Weise verarbeitet.

Sämtliche aëroben Kulturen blieben steril.

In der Tarozzi-Bouillon war schon nach 2 Tagen eine Vermehrung der Fäden nachzuweisen. Später bildete sich ein Bodensatz mit den bekannten weißen, diphtheroide Bazillen enthaltenden Körnchen. Die Bouillonkulturen behielten den Geruch des Eiters bei.

Im Agar wuchs der Pilz zunächst nicht an. Ich habe dann Körnchen aus der Bouillonkultur im Mörser zerrieben und mit dieser Pilzemulsion Reagenzglasschüttelkulturen hergestellt. Sie wuchsen sämtlich an, waren geruchlos und verhielten sich in allen Einzelheiten wie die bei Fall I geschilderten. Die in Fig. 4 u. 5 abgebildeten Kolonien stammen von diesen Kulturen her.

Aus obigen Schilderungen geht klar hervor, daß es sich in allen 3 Fällen um echte, streng anaërobe Streptothricheen gehandelt hat. Sie verhalten sich in jeder Beziehung wie die von Silberschmidt (11, 12), Axenfeld (1) und anderen, und später in der vorzüglichen Arbeit von Wissmann (15) beschriebenen Arten, ferner wie der von Nesczadimenko (5) aus einem Bauchabszeß gezüchtete Pilz.

Sie sind den anaëroben Aktinomyzeten nahe verwandt, unterscheiden sich aber von ihnen in mehrfacher Hinsicht[1]):

1) durch das Fehlen von Actinomyces-Drusen, 2) durch größere Empfindlichkeit gegenüber dem Nährboden. Sie verlangen strenger anaërobe Verhältnisse, wachsen weder in Bouillon, noch in anderen flüssigen Medien, aus denen nicht eigens der Sauerstoff entfernt ist. Sie sind auf Oberflächen nicht zum Wachstum zu bringen.

Dagegen haben Silberschmidt, Wissmann und andere über anaërobe Reagenzglasoberflächenkulturen auf Glyzerinagar berichtet.

3) Durch die Prognose. Der Verlauf der Erkrankung war in allen 3 Fällen günstig; sie heilten unter chirurgischer Therapie, kombiniert mit Jodkalibehandlung[2]). Dies ist am bemerkenswertesten bei Fall III, da die Aktinomykose der Brustorgane meines Wissens bisher in jedem Fall tödlich verlaufen ist.

Eine noch nicht völlig geklärte Frage, auf die ich hier noch eingehen möchte, ist die Bedeutung der verschiedenen Wachstumsformen bei Streptothrix.

Wir haben 2 Hauptwachstumsformen kennen gelernt: die in langen Fäden, und die in kurzen Gliedern. Die letztere Wachstumsform kommt im lebenden Organismus kaum vor, ist aber in der Kultur bei weitem die häufigere. Es ist die widerstandsfähige, dauernde Form. Man findet sie ausschließlich in älteren und mehrfach übergeimpften Kulturen. Das Fadenwachstum macht auf die Dauer immer dem baumartig verzweigten Wachstum Platz.

---

[1]) Ich befinde mich hier im Gegensatz zu dem neuen Vorschlag Rullmanns (9), alle Streptotricheen als Aktinomyzeten umzutaufen (vgl. hierüber H. C. Plaut, Deutsch. med. Wochenschr. 1916. S. 929). Zweckmäßiger scheint mir der von Petruschky (7) für alle Pilze dieser Gattung eingeführte Name Trichomyzeten, der für den Grad ihrer Verwandschaft nichts präjudiziert.

[2]) Nesczadimenkos Pat. ist ohne chirurgische Therapie bei innerlicher Jodkalimedikation geheilt worden.

Dieselbe Beobachtung hat Shiota (10) bei den Aktinomyzeten gemacht; er sagt: die lebenskräftigen Kulturen wachsen als Fäden, die abgeschwächten als Stäbchen.

Ich möchte es so ausdrücken: Unter günstigen äußeren Bedingungen wächst das Myzel des Streptothrix in die Länge und verzweigt sich selten; unter weniger günstigen Bedingungen wächst es plumper und sendet in kurzen Abständen Verzweigungen aus. Denn die Aeste bleiben am Stamme sitzen, so daß zunächst ein zusammenhängendes Myzel vorhanden ist. Deshalb sollte man sagen: Der Streptothrix wächst als Bäumchen, nicht: er wächst als Stäbchen. Daß man so leicht meint, das Korn in der Bouillon oder die Agarkolonie bestände aus diphtheroiden Stäbchen, erklärt sich, wie ich schon oben erwähnte, daraus, daß die Bäumchen bei der Herstellung der Präparate an den Verzweigungsstellen auseinandergerissen werden. Nur am ungefärbten Präparat kann man entscheiden, ob man einen Haufen Stäbchen oder ein verzweigtes Myzel vor sich hat.

Außer in der Gestalt und in der Dauerhaftigkeit unterscheiden sich die beiden Wachstumstypen noch in der Färbbarkeit.

Bei den Fäden findet man weitgehende Variationen in der Gramfestigkeit, die von der Segmentierung in grampositive und gramnegative Abschnitte bis zur völligen Entfärbung gehen. Außerdem kommt nicht ganz selten eine körnige Struktur des Protoplasmas vor, die an feine Streptokokkenketten erinnert und mit dem körnigen Zerfall beim Absterben der Kultur nichts zu tun hat. Dresel (2) hat diese Dinge mit der granulären Form des Tuberkelbazillus verglichen. Beides kommt bei den baumartig wachsenden Kolonien nicht vor. Sie nehmen das Gentianaviolett sehr intensiv an.

Nun finden sich sowohl im Körper als in der Kultur stets auch losgelöste Stäbchen. Sie entstehen aus beiden Formen durch Fragmentation. Man kann aber den Stäbchen noch nachträglich ansehen, ob sie von einem Faden oder von einem Bäumchen herrühren. Da an jeder Verzweigungsstelle das Myzel etwas verdickt ist, spalten sich die Bäumchen in Bazillen mit leichten Endanschwellungen, die auch die baumförmige Lagerung beibehalten. So kommt die Aehnlichkeit mit Diphtheriebazillen zustande. Dagegen zerfallen die Fäden in gleichmäßig dicke, mehr hintereinander gelagerte Fragmente, an denen oft noch die Zusammensetzung aus grampositiven und gramnegativen Segmenten oder die granuläre Struktur des Zelleibes zu erkennen ist.

Die kokkenartigen Formen halte ich nicht für etwas grundsätzlich von den Stäbchen Verschiedenes. Auch Wissmann neigt dieser Ansicht zu. Man findet sowohl im nativen Präparat, als auch in der Kultur zwei Entstehungsweisen der sporenähnlichen Gebilde. 1) durch Fragmentation. Die Länge der Fragmente schwankt sehr (Pleomorphismus). Sind sie besonders kurz, so bekommt man das Bild von perlschnurartig aneinandergereihten Kugeln (Fig. 2 rechts unten). Es besteht aber keine äußere Membran, so daß diese Gebilde nicht mit Oidiosporen gleichgesetzt werden können.

Oder die Kokken entstehen durch kugelige Auftreibung der Stäbchenenden (Fig. 3). Man sieht manchmal Kokkenformen, die noch einen kurzen Stiel als Anhängsel haben. So gibt es alle Uebergänge.

Ob die Bazillen biologisch sporenähnliche Funktionen haben, wie Dresel es annimmt, kann ich nach meinen Beobachtungen nicht beurteilen. Sicher ist, daß sie sich schon im Tierkörper bilden, und daß Absterbeerscheinungen an ihnen nicht selten sind.

Nun noch ein Wort zu Fall III.

Hier hat eine reine Streptothrichomykose ohne irgendeinen anderen Keim stinkenden Eiter erzeugt und in der Bouillonkultur den Geruch durch 2 Generationen beibehalten. Einen unangenehmen Geruch der anaëroben Bouillonkultur von Aktinomyzeten und Streptothricheen hat Silberschmidt mehrfach beobachtet. Der Eiter selbst war nur in einem mit Pyocyaneus mischinfizierten Fall stinkend. Der Geruch wird bezeichnet als ähnlich dem einer Tetanuskultur.

In meinem Fall erinnerte er mehr an Buttersäure. Es muß weiterer Beobachtung überlassen bleiben, die Bedingungen zu erforschen, unter denen die sonst völlig geruchlosen anaëroben Streptothricheen diese sonst für manche anaërobe Bakterien charakteristische Eigenschaft annehmen können.

Zusammenfassung.

I. Wir haben aus einer chronischen Parotitis, einem Mundhöhlenabszeß und einem Empyem echte, streng anaërobe Streptotricheen gezüchtet.

II. Sie unterscheiden sich von Aktinomyzeten: a) im Körper: durch das Fehlen von Drusen, durch relative Gutartigkeit, b) in der Kultur: durch strengere Anaërobiose, durch stärkere Abneigung gegen Oberflächenwachstum.

III. Der anaërobe Streptothrix hat 2 Wachstumsformen. Sie unterscheiden sich a) in der Gestalt, b) im Verhalten zu Farbstoffen, c) in der Widerstandsfähigkeit. Diese Unterschiede zeigen sich auch an den durch Fragmentation aus ihnen entstandenen Stäbchenformen.

IV. Es gibt anaërobe Streptotricheen, die einen intensiven fötiden Geruch erzeugen.

V. Man sollte bei jeder chronischen Entzündung unbekannter Herkunft auf Streptothrix-Fäden achten, da diese häufiger sind, als im allgemeinen angenommen wird, und leicht übersehen werden.

Literatur.

1) **Axenfeld**, Bakteriologie in der Augenheilkunde. 1907.
2) **Dresel**, **Zieglers** Beitr. Bd. 60. 1915. S. 185.
3) — Deutsch. med. Wochenschr. 1914. S. 1862.
4) **Majocchi**, Arch. per le science med. Vol. 16. 1892; zit. b. **Axenfeld**.
5) **Nesczadimenko**, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 25. 1905.
6) **Neukirch**, Diss. Straßburg. 1902.
7) **Petruschky**, **Kolle-Wassermanns** Handb. Bd. 5.
8) **Plaut**, in **Kraus-Brugsch**. 1914.
9) **Rullmann**, München. med. Wochenschr. 1914. S. 1899.
10) **Shiota**, Deutsch. Zeitschr. f. Chir. Bd. 101. 1909.
11) **Silberschmidt**, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 27.
12) — Zeitschr. f. Hyg. Bd. 37.
13) **Söderlund**, Deutsch. med. Wochenschr. 1913. S. 1632.
14) — Förhandl. vid. Nordisk kirurgisk Förenings 1919.
15) **Wissmann**, Monatsbl. f. Augenheilk. 1913.
16) **Wolf** u. **Israel**, **Virchows** Arch. Bd. 126. 1881.

Nachdruck verboten.

Beitrag zum Studium der Aktinomykose.

Von Dr. **A. Rodella,** Vöhrenbach (Baden).

Mit 8 Figuren.

Die fast unübersehbare Aktinomykose-Literatur ist in den letzten Jahren mit wertvollen Arbeiten bereichert worden, ohne daß man jedoch die ganze Actinomyces-Frage als gelöst betrachten kann. Abgesehen von anderen noch strittigen Einzelheiten, bleiben immer noch folgende Hauptfragen offen:

1) Ist der Actinomyces-Pilz wirklich von anderen Streptotricheen abzusondern, oder ist die Aktinomykose eine durch Streptotricheen im allgemeinen hervorgerufene Erkrankung?

2) Ist die Bildung von Spirillen, Stäbchen und Kokken in Actinomyces-Kulturen nur als Ausdruck des Polymorphismus oder als eine zu dem Entwicklungszyklus des Actinomyces-Pilzes gehörige Erscheinung, oder endlich als Täuschung oder Kunstprodukt (Brussoff) aufzufassen?

3) Ist eine Klassifikation, welche sich auf die Merkmale der Fragmentation und des Wachstums (aërob oder anaërob) stützt, überhaupt durchführbar?

Ich hatte Gelegenheit, außer der in einer Lungengangrän gefundenen Streptothrix-Art (welchen Fall ich vor kurzem in der Med. Klin. beschrieben habe) noch einen interessanten Fall von Aktinomykose verfolgen zu können, den ich hier kurz anführen möchte[1]):

H. Gottlieb, 40 J. alt, Schreiner. Anamestisch nichts von Bedeutung. Pat. hatte schlechte, abgebrochene Zähne.

Am 10. Nov. 1917 bekam er heftige Zahnschmerzen und es trat Schwellung der linken Gesichtshälfte auf. Heiße Kalaplasmen, die er darauf legte, sollen eine gute Wirkung gehabt haben.

Am 17. Nov. geriet Pat. in einen Streit und soll dabei einen Schlag auf diese Gegend erhalten haben. Darauf trat wieder eine starke Schwellung des ganzen Gesichtes auf und Pat. blieb 8 Tage im Bett. Der behandelnde Arzt verordnete Umschläge mit essigsaurer Tonerde, worauf die Schwellung bis auf eine Stelle, die hart blieb, zurückgegangen sei. Da der Arzt in dem schlechten Zustande der Zähne die Ursache der Fortdauer der Geschwulst sah, schickte er den Pat. zu einem Zahnarzt, welcher ihm 10 obere Zähne auszog.

Ende Dezember kam Pat. in die chirurgische Poliklinik, wo ein Zahnabszeß konstatiert und gleichzeitig inzidiert wurde. Der Eiter wurde bakteriologisch untersucht. Nach der Inzision schwoll auch die Wange ab, aber schon 14 Tage später schwoll sie wieder an. Ungefähr 1 cm höher und 3 cm seitwärts des linken Mundwinkels wurde eine neue Inzision gemacht. Der Eiter wurde wieder mikroskopisch untersucht. Die Inzisionsstelle bildete ein Erweichungsherd mit einer bretthaiten Induration in der Umgebung. Das Aussehen des Pat. war zu dieser Zeit recht auffallend. Die Haut auf der linken Gesichtshälfte war von braunroter Farbe, an manchen Stellen, wie z. B. am linken Ohr, zyanotisch. Die Lidspalte des linken Auges war infolge des Oedems der Augenlider enger als diejenige des rechten. Die Augenlider waren dunkelrot, etwas zyanotisch. Das Hautödem machte aber bei der Palpation mehr den Eindruck eines derben Infiltrates und war nicht, wie bei den gewöhnlichen Oedemen, leicht eindrückbar.

Am 20. Jan. machte man neben dem äußeren Ende des Os zygomaticum eine tiefe Inzision. Mikroskopische und bakteriologische Untersuchung des Eiters. Anlegung einer Gummidrainage.

Nach einigen Tagen Entfernung des Drains. Pat. bekommt innerlich Kali jodatum und wird mit Röntgenstrahlen behandelt. Am 8. Febr. wurde an der gleichen Stelle wieder inzidiert, der Eiter untersucht und drainiert. Am 11. Febr. wurde Pat. in die chirurgische Klinik aufgenommen. Bald darauf wurde der Gummidrain entfernt und in den folgenden Tagen hörte die Eiterung auf und die Wunde schloß sich. Wegen Eiterbildung an der alten Inzisionsstelle mußte man noch zweimal inzidieren. Jedesmal kam der Eiter zur mikroskopischen und bakteriologischen Untersuchung.

---

[1]) Für die Ueberlassung der Krankengeschichte sowie des klinischen Materials spreche ich Herrn Prof. Dr. Quervain meinen besten Dank aus.

Bemerkenswert ist, daß eine ziemlich starke Verdickung, auch der knöchernen Teile des linken Oberkiefers, welche sehr wahrscheinlich auf eine Periostitis zurückzuführen ist, nicht zu verkennen war. Diese war hauptsächlich deutlich längs dem Os zygomaticum.

Klinisch imponierte der Fall als eine typische Aktinomykose und es bestand bei demselben die verlangte Trias: derbes Infiltrat mit braunroten Erweichungsherden und etwas eingezogenen, vernarbten Stellen, das Fehlen von Lymphdrüsenschwellungen und endlich das Vorhandensein der gelblichen Körner im Eiter.

Von den 5 Eiterproben, welche von uns untersucht wurden, enthielten nur die 1. und 3. Körner; bei den übrigen wurden sie vermißt. Erwähnen möchten wir noch, daß bei der 2. Inzision der Eiter von einem mit diesen Untersuchungen sehr erfahrenen Angestellten der chirurgischen Klinik mikroskopisch untersucht wurde. Er fand darin Streptokokken, was die bei der 1. Untersuchung gestellte Diagnose ins Schwanken brachte. Dieser Umstand ist wichtig sowohl wegen der Frage der Mischinfektion, als auch wegen Deutung des Befundes.

Wie oben erwähnt, konnten nur zweimal in dem Eiter Körner gefunden werden. Dieselben waren hirsekorngroß, rundlich, linsenförmig, d. h. etwas bikonvex. Die Farbe war graugelblich, nicht ganz homogen; die Körner, die in sehr spärlicher Zahl vorhanden waren, waren nicht ganz frei, sondern wie umgeben von einer gallert-schleimigen Flüssigkeit. Wurde nach dem Vorschlag von de Quervain's eines von diesen Körnern zwischen 2 Glasplatten zerquetscht, so fand man bei der Durchsicht eine matte Zone an der Peripherie, herrührend von Eiterzellen, und ein durchsichtigeres Zentrum, dem Fädengewirre des Pilzes entsprechend.

Bei der mikroskopischen Untersuchung fand man keine Keulen und keine Kolben, sondern nur eine äußere, runde Schicht von Eiterkörperchen und einen Kern, der von einem Gewirr von Fäden gebildet wurde. Diese Fäden waren grampositiv, doch nicht regelmäßig gefärbt, sondern wiesen eine Scheide auf, die etwas heller war und manche intensiv violett gefärbte Schollen enthielt, die z. T. rund, z. T. länglich waren.

An anderen Orten war die Scheide in langen Intervallen so schwach gefärbt, daß die Konturen fast nicht erkenntlich waren; nur hier und da lagen in derselben nicht stark gram-positiv gefärbte, unregelmäßige Punkte. Manche stark gram-positiv gefärbte Fäden waren wie umgeben von kleinen, pulverförmigen, gram-positiven Pünktchen, andere zeigten schöne, spitzwinklige Verzweigungen. Weitere Fäden wiesen rechtwinklige Verzweigungen auf. Hier und da fanden sich ellipsoide, gram-positive Gebilde, manchmal vereinzelt, manchmal in Gruppen von einigen Exemplaren, die entweder als Konidien oder als Volutinklumpen angesehen werden konnten. Die Dimension dieser runden Gebilde ist sehr verschieden; einige entsprechen der Größe der Staphylokokken, andere sind doppelt bis dreimal so groß und darüber.

Neben diesen gram-positiven Gebilden befinden sich gram-negative, und zwar hauptsächlich in Form von langen, schlanken Bazillen, manchmal gerade, manchmal etwas gebogen, mit kantigen, oder abgerundeten Enden.

Zur bakteriologischen Untersuchung des Eiters habe ich mich der Technik bedient, welche ich für die Untersuchung der Mundbakterien vorgeschlagen habe. Es kam also in der Hauptsache die Achalmesche

Methode zur Anwendung, und vor allem galt der Grundsatz, immer ziemlich viel Ausgangsmaterial (Eiter) zu impfen und die Kulturen lange Zeit im Brutschrank zu lassen.

Der Eiter, der kurz nach der Entleerung (2—3 Std.) zur Anlegung der Kulturen verwendet wurde, wurde in Quantitäten von je ca. $^1/_2$—1 ccm in 4—6 Achalmesche Röhrchen geimpft. Die Hälfte dieser Röhrchen wurde ohne weiteres in den Brutschrank gestellt, die andere Hälfte erst nach Herstellung einer strengen Anaërobiose (es kamen sowohl die Buchnersche, wie die Grubersche, d. h. die Vakummethode, zur Anwendung). Im Brutschrank blieben die Kulturen 4—5 Tage lang; sie wurden dann mikroskopisch untersucht und je nach dem Ergebnis dieser Untersuchung weiterverarbeitet.

Auf der Serumplatte waren die Kolonien schon nach 3—5 Tagen sehr leicht durch die starke Einsenkung des Nährbodens und durch ihr welliges, kompaktes, fast lederartiges, schmutziggraues Aussehen erkennbar. Ein Versuch, aus diesen Kolonien etwas Material abzustreifen, gelang gewöhnlich nicht; denn bei etwas festerem Druck auf dieselbe löste sich die ganze Kolonie in toto vom Nährboden ab. Nach Herausnehmen dieser Kolonien, welche sich wie ein Deckel aufheben ließen, blieben auf der Serumoberfläche Löcher zurück, deren Ränder scharf ausgeschnitten, wie ausgestanzt waren.

Die aus diesen Kolonien angefertigten mikroskopischen Präparate zeigten sehr dicke, schön verzweigte Fäden, meistens verschlungen und zu dicken Knäueln gewunden. Daneben waren recht viele rundliche, kokkenähnliche Gebilde, welche als Sporen (Saatformen) aufgefaßt werden mußten. Beide Formen, sowohl die Fäden als auch die Kokken, waren meistens gram-positiv, teilweise aber auch gram-negativ. Bei den Fäden war aber eine ziemlich gute Färbbarkeit nach Gram zu konstatieren, die jedenfalls viel besser war als bei Kulturen auf anderen Nährböden.

Die Serumkolonien wurden auf Serumplatten weiter überimpft und auch in flüssige Nährmedien weiter übertragen.

Bouillonkulturen: Das Wachstum war recht langsam und erst nach 6—7 Tagen deutlich sichtbar, meistens in Form eines höckerigen, weißen Bodensatzes. Die Flüssigkeit blieb immer klar, und nach kräftigem Schütteln des Röhrchens wirbelte der Satz in mehr oder weniger kleinen Bestandteilen in der Flüssigkeit umher, aber zu einer bleibenden Trübung kam es nicht; nach kurzem Stehen wurde die Flüssigkeit wieder klar (Mikroskopisch siehe Figg. 4—6 und 7).

Zuckerbouillon: Das Wachstum dieser Kulturen ist in einigen Fällen gleich wie in den einfachen Bouillonkulturen, doch ist es immer viel üppiger. Die Flüssigkeit bleibt auch hier immer klar. Relativ häufig beobachtet man hier die Bildung von hirsekorn- bis kleinerbsengroßen Kügelchen, welche ein kompakteres, weißlicheres Zentrum und eine etwas hellere, schleimige Peripherie aufweisen.

Diese Erscheinung ist aber nicht konstant, indem diese Kugeln manchmal das Aussehen von weißlichen, rundlichen Körnern haben. Diese sind gewöhnlich getrennt, aber nur für kurze Zeit, denn es bildet sich bald eine Haut, welche die Körner zusammenhält. Manchmal bleiben diese Körner an den Wänden des Reagenzglases haften; hier flachen sie gewöhnlich ab, fallen wieder auf den Boden des Reagenzglases herunter, oder bilden bei Verdunsten der Flüssigkeit einen Ring, welcher aus einer weißlich-gelblichen, höckerigen Haut besteht und das Niveau, bis zu welchem die Bouillon reichte, anzeigt. Gewöhnlich entwickeln sich diese

Körner zuerst am Boden des Reagenzglases und steigen, solange sie getrennt sind, immer langsam weiter in die Flüssigkeit hinauf (Fig. 1). In der Periode, wo sie sich bilden, steigen sie, wenn sie in die Flüssigkeit hinaufgedrängt werden, bald wieder an die Oberfläche. Nachher fallen sie, selbst bei vorsichtigem Transport, auf den Boden des Reagenzglases. Wenn die Körner in dem sich später bildenden, schleimigen Schleier liegen, so zeigen sie manchmal die Eigenschaft, auf die Oberfläche zu steigen, und man bekommt dabei den Eindruck, als ob die Körner die lufthaltigen Teile wären und der Schleier der kompaktere, schwerere Teil. Etwas seltener tritt in Zuckerbouillon eine neue Wuchsform auf, und zwar in Gestalt von äußerst kleinen, weißen Punkten, aus denen nach allen Richtungen feine, lange Strahlen austreten, die bald bis zur Oberfläche des Röhrchens gelangten (Fig. 2). Von der klaren Bouillon umgeben, hat dieser Büschel von haarfeinen Fäden ein sehr zierliches Aussehen.

Mikroskopisch bestanden die weiter oben beschriebenen Körner aus Stäbchen, aber meistens aus gewundenen, langen Fäden (Fig. 4).

Gelatine: Bei 22° sowohl wie bei 37° kein deutliches Wachstum. Bei Körpertemperatur in Zuckergelatine manchmal spärliche Vermehrung des ausgesäten Materials.

Milch: Die Milch ist insofern nicht ein geeigneter Nährboden, weil manchmal solche Kulturen versagen. In den meisten Fällen jedoch beobachtet man schon am 2. Tage eine homogene Gerinnung, die nicht durch Säurebildung, sondern durch Labferment hervorgerufen ist. Im Laufe der folgenden Tage löst sich das Gerinnsel allmählich auf und binnen ca. 1 Woche ist die Milch vollständig peptonisiert und in eine klare Flüssigkeit umgewandelt[1]).

Mikroskopisch findet man sehr kräftige, wenig degenerierte und wenig verzweigte Fäden, die die Gramsche Färbung gut annehmen. In anderen Fällen bildet das eingeimpfte Material rundliche, in Reihen angeordnete, teilweise T-förmige Gebilde, welche sich nicht in toto färben lassen, sondern nur eine schwach gefärbte Peripherie zeigen und sich tinktoriell ungefähr wie manche Sporen verhalten. Dabei bleibt das Kasein unverändert und die Sporen bilden sich hauptsächlich in weißen, pulvrigen Bodensatz um.

Agar: Ein oberflächliches Wachstum war auf diesen Nährböden mit der gewöhnlichen Technik, d. h. mit dem Ueberimpfen mittels des Platindrahtes oder der Platinöse, schwer zu erzielen. Aspirierte man aber mittels einer pasteurisierten Pipette den Bodensatz einer Bouillonkultur, und ließ man denselben auf die Oberfläche einer Agarplatte herausfließen, so bekam man ein üppiges Wachstum. Das gleiche Resultat erzielte man, wenn man die Kahmhaut einer Bouillonkultur auf die Agaroberfläche brachte und mit derselben die ganze Fläche anstrich.

Die Kolonien auf der Agarplatte zeigen bei der mikroskopischen Betrachtung eine etwas unregelmäßige Form, manchmal mit wellenförmigen Rändern, manchmal mit Ausläufern. Der Bau ist nicht immer homogen, sondern zeigt sich oft wie aus konzentrischen Schichten bestehend, oder ist etwas schuppenartig.

Unter dem Mikroskop (Objekt. 3, Ok. 2) zeigen die aufliegenden Kolonien auf der Agarplatte ein welliges, fein haarförmiges Aussehen mit undurchsichtigem Zentrum. Es besteht eine gewisse Aehnlichkeit

---

1) Da der Mikroorganismus auch Säure bildet, gehört er zu den Labsäurebakterien (Gorini etc.).

mit manchen Milchsäurebazillenkolonien und selbst mit dem des Milzbrandbazillus; der Hauptunterschied besteht darin, daß die Milzbrandkolonien schön gebogene, homogene, glänzende, in gleicher Richtung verlaufende Fäden aufweisen, diejenigen von unseren Actinomyces-Kulturen aus mehr punktierten, gebrochenen, sich kreuzenden Fäden bestehen. Die Form ist gewöhnlich regelmäßig und rundlich. Die tiefliegenden Kolonien sehen dagegen eiförmig bis ellipsoid aus und haben sehr scharfe Konturen und einen grob punktförmigen Inhalt, so daß sie in manchen Exemplaren fast an das Aussehen von Parasiteneiern erinnern (gefärbt. mikroskop. Präparat. Fig. 3).

Fig. 1.

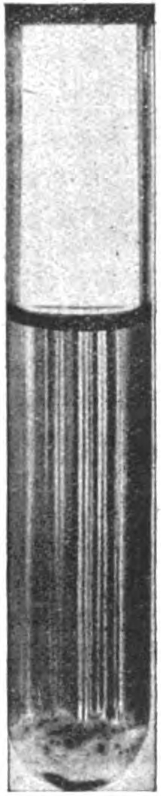


Fig. 2.

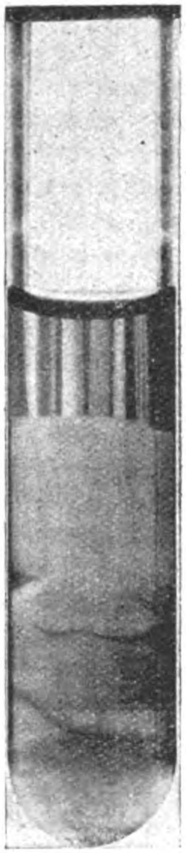


Fig. 3.

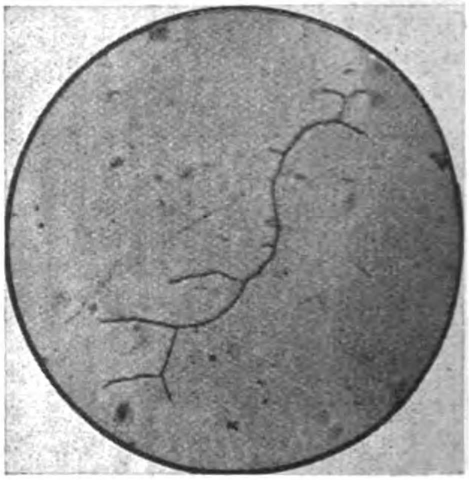


Fig. 4.

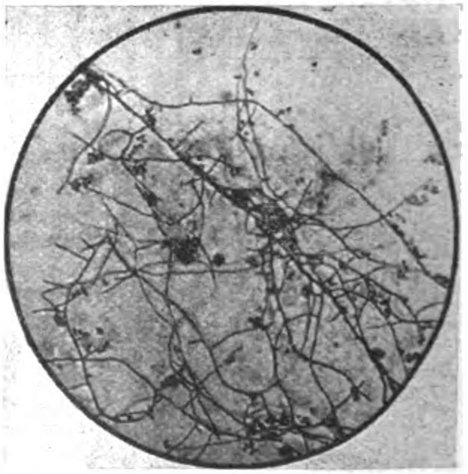


Fig. 1. 8 Tage alte Zuckerbouillonkultur. Am Boden des Röhrchens einige hirsekorngroße, rundliche Gebilde, welche die Neigung haben, nach der Oberfläche zu steigen. Beim Transport und selbst bei kleinen Erschütterungen sinken sie zu Boden.

Fig. 2. — 2 Wochen alte Zuckerbouillonkultur. Am Boden des Reagenzglases sieht man kleine, punktförmige Kolonien, aus denen äußerst zahlreiche, radiär angeordnete, haarfeine Ausläufer ausgehen, die die Oberfläche erreichen. Die Bouillon bleibt klar.

Fig. 3. Mikrophotographie eines langen, vielfach verzweigten Fadens mit und kurzen Aesten. Aus 1 Monat alter Agarplatte angefertigtes Ausstrichpräparat. Gram-Färbung.

Fig. 4. Aus einem schwimmenden Körnchen einer 5-tägigen Bouillonkultur. Gram-Färbung. Zwischen den Maschen des wie ein Geflecht von Dornen aussehenden Präparates beobachtet man in regelloser Anordnung Haufen von Sporen, die wie Staphylokokken aussehen und ebenfalls gram-positiv sind.

Nach Ablauf von ca. 3—5 Tagen bedecken sich manche Kolonien mit einem staubigen, weißen Ueberzug, der mit dem Platinspatel oder der Platinöse sehr leicht abzuwischen ist. Diese Erscheinung ist jedoch nicht häufig. Es handelt sich dabei auf alle Fälle nicht um eine Verunreinigung, sondern nur um eine charakteristische Eigentümlichkeit, wie wir uns auf Grund von vielen Versuchen überzeugen konnten. Dieser Ueberzug bildet an manchen Stellen höckerige, weiße, unregelmäßige Erhabenheiten, welche wie Kreidestücke oder kreidige Einlagerungen aussehen. Diese Erscheinung erinnert an die Beschreibung von Mertens, der sagte: „. . von dem Belag hoben sich eine Anzahl weißer Pünktchen ab, welche sehr fest am Nährboden hafteten und auf den ersten Blick wie verunreinigende Staphylococcus albus-Kolonien erschienen. Nach 72 Std. ging auch das 3. Röhrchen auf, und nach 5 Tagen hatte sich ein auffallend lebhaftes Wachstum entwickelt. Die Agaroberfläche sah aus, als wäre sie mit Kreide bestreut. Der Belag wurde dicker und das kreidige, trockene Aussehen immer frequenter. Letzteres beruhte auf einem feinen Staube, der die Kultur bedeckte und an der darüberstreichenden Platinnadel hängen blieb. Er bestand aus kurzen, zuweilen verzweigten Stäbchen.“

Fig. 5.

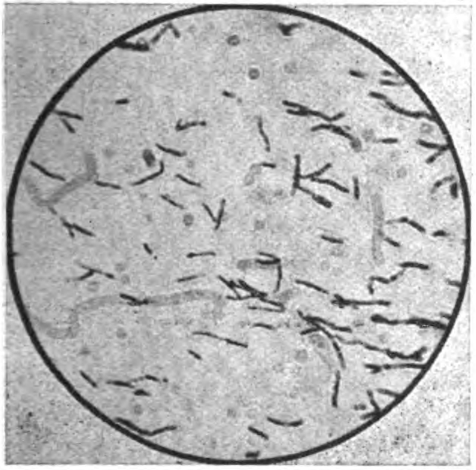


Fig. 6.

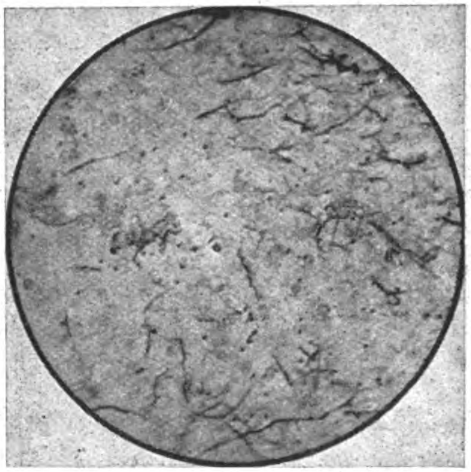


Fig. 5. Aus 14-tägiger Agarkultur. Das Präparat wurde mit den Kolonien aus der Tiefe angefertigt. Die Kultur wurde in den flüssigen und dann rasch erstarrten Agar (anaërob) angelegt. Man sieht die „Köpfchenformen“, die fast wie Tetanusbazillen aussehen. Diese Erscheinung, welche fast nirgends erwähnt wird, ist beinahe allen Streptothrix-Arten gemeinsam.

Das Verhalten dieser Formen der Gram-Färbung gegenüber ist recht verschieden.

Fig. 6. Aus einer 3-tägigen Bouillonreinkultur, die aus einer isolierten Kolonie einer Agarplatte stammte. Die Bouillon war etwas trüb. Neben dem welligen, spirillenförmigen Aussehen der zumeist zugespitzten Fäden ist auch deren Färbbarkeit nach Gram bemerkenswert. Von einigen sieht man nur fast farblosen Schatten, von anderen eine unregelmäßige, wie gesprenkelte Färbung: nur wenige sind gleichmäßig und ziemlich intensiv gefärbt. Einige endlich sehen wie Streptokokkenketten aus.

In gefärbten mikroskopischen Präparaten zeigte der weiße Belag auf der Platte mehr oder weniger lange Fäden, die mit kleinen Kokken gefüllt waren. Von manchen Fäden sah man nur die Hülse; diese war entweder ganz leer oder mit nur ein paar von den runden Gebilden versehen; die übrigen lagen frei um die Fäden herum. An manchen Stellen waren die kokkenartigen Gebilde in der Mehrzahl, die Fäden nur vereinzelt vertreten. Manche von diesen letzteren hatten ihre tinktorielle Eigenschaft noch vollkommen behalten, andere bestanden nur aus der Scheide, die sehr unregelmäßig gefärbt war, wieder andere endlich waren vollkommen ungefärbt (Fig. 3). Bei der Ueberimpfung von der Agarplatte in Bouillon bekamen wir hier und da Kulturen, die sich trübten. Die Trübung war jedoch nicht so intensiv wie die einer gewöhnlichen Staphylokokkenkultur, sondern etwas mehr staubig. Nach kurzer Zeit klärte sich die Flüssigkeit und es bildete sich ein weißer, punktförmiger Niederschlag. In dieser Kultur waren lauter kleine, runde Kokken zu sehen, die z. T. gram-positiv, z. T. gram-negativ, entweder vereinzelt oder in Haufen angeordnet waren. Diese Kokken waren nur ungefähr halb so groß wie diejenigen des Staphylococcus pyogenes albus.

In tiefem Agar, d. h. in flüssig geimpftem und nachher erstarrtem Agar, wachsen die Kolonien auch anaërob, jedoch ziemlich langsam. Sie erreichen binnen 1—2 Wochen die Größe eines Hirsekornes und bekommen im Laufe der Zeit eine immer mehr gelbrot werdende Farbe, haben unregelmäßige, rundliche Form und sehen nicht ganz homogen aus. Selbst nach 1—2 Mon. werden diese Kolonien nicht mehr größer;

Fig. 7.

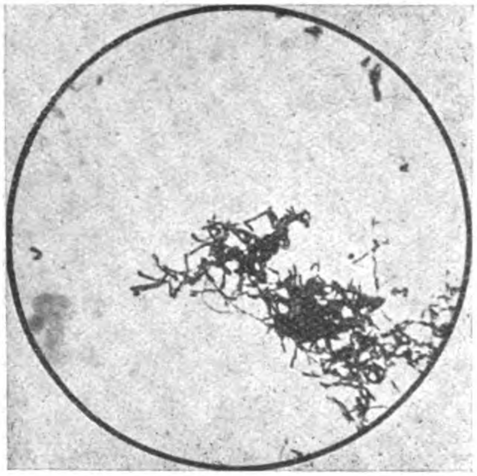


Fig. 8.

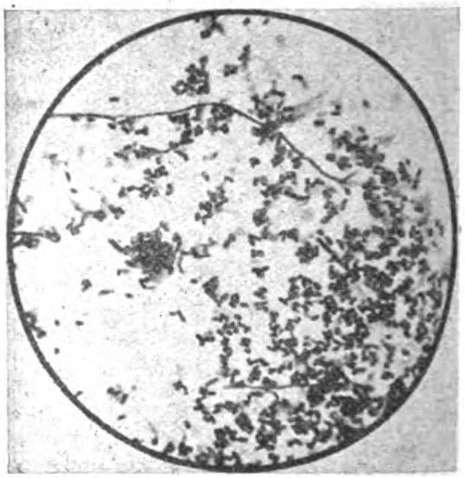


Fig. 7. 10-tägige Bouillonreinkultur. Gram-Färbung. Auch hier zahlreiche „Köpfchenbakterien“, jedoch mit ovaler Spore und mehr an Bacillus putrificus Bienst. als an B. tetani erinnernd. Im übrigen zeichnet sich das Präparat durch die starke Fragmentation und die ungleichmäßige Färbung aus.

Die Erscheinung der „Köpfchenbakterien“ ist wohl mit der Bezeichnung von „kolbigen“ oder „rundlichen“ Anschwellungen auch früher bezeichnet worden. In manchen Kulturen hätte man aber fast den Eindruck haben können, es handle sich um die oben genannten sporenbildenden Bazillen, wie sie sich oft im Stadium der Sporenanlage vor der Sporenbildung zeigen.

Fig. 8. Aus dem „weißen Staub“ einer 4 Wochen alten Agarreinkultur. Gram-Färbung. Wie Savaugeau und Radais bereits beschrieben hatten, ist der Actinomyces in Stäbchen verschiedener Länge und Dicke und in große Kokken zerfallen. Es scheint etwas gekünstelt, eine solche Erscheinung nur den Manipulationen zur Herstellung des Präparates zuschreiben zu wollen, wie es Brussoff getan hat.

Sämtliche Mikrophotographien wurden von Herrn A. Schildknecht, Wärter des pathologischen Institutes der Universität Basel, mit Komp.-Ok. 8 und Oel-Imm. $^1/_{12}$ ausgeführt.

nur die Farbe wird etwas dunkler, bleibt sich aber auch von da an immer gleich. Die mit diesen Kulturen angefertigten mikroskopischen Präparate haben vielmehr das Aussehen einer Bazillenkultur, als alle anderen Kulturen. Manche Bazillen sehen sowohl in bezug auf die Form, als auch auf ihre tinktoriellen Eigenschaften wie Diphtheriebazillen aus und unterscheiden sich nur dadurch, daß sie etwas gramfester sind als die Loefflerschen Diphtheriebazillen. Die Fäden sind sehr zahlreich, jedoch nie länger als 10—15 μ. Die ganz kurzen Formen sind homogen, intensiv gefärbt, die Fäden im allgemeinen etwas ungleichmäßig; nur einige sind gleichmäßig und intensiv. Segmentierung sieht man hier so gut wie nicht, dagegen hier und da das Zerfallen der Fäden in kleine, runde bis etwas längliche Kokken. Auch die kurzen, fast bazillären Formen zeigen hier die schönsten Verzweigungen. Das Charakteristikum dieser Kulturen sind aber die äußerst zahlreichen Anschwellungen an den Enden sowohl der kürzeren Formen als der Fäden. Man sieht hier Formen, die genau an den Tetanusbazillus erinnern, bei denen die endständige Spore vielleicht nicht ganz rund und der Bazillus manchmal etwas zu schlank ist; hier und da sieht man aber typische Tetanusbazillusformen. Manchmal ist die Spore gut gefärbt, vom Bacillus sind aber nur die Konturen deutlich, das Uebrige ist entweder gar nicht oder nur stellenweise und schwach gefärbt. Auch die übrigen Anschwellungen verhalten sich der Gram-Färbung gegenüber ganz verschieden. Es sind hier schöne Keulen, bzw. kolbenförmige Anschwellungen, welche manchmal die Gramsche Färbung in toto annehmen, manchmal mehr oder weniger große Lücken erscheinen lassen. Außer diesen Kolben kommen auch Fäden vor, die in ihrem oberen Drittel eine rundliche Spore aufweisen, welche sozusagen vom Faden wie durchbohrt aussieht. Andere Male sitzt die Spore in der Mitte (Fig. 5).

Kartoffeln: Auf Kartoffeln konnten wir überhaupt gar kein Wachstum beobachten. Wir überimpften darauf aus Kulturen von flüssigen und festen Nährböden aller Art, oft auch aus den trüben Bouillonkulturen, wo sich mikroskopisch die kleinen Kokken (Sporen) nachweisen ließen, aber immer mit negativem Resultat. Das wäre ein weiterer Beweis dafür, daß es sich hier um keine Kokken im gewöhnlichen Sinne handelt.

Im Glyzerinwasser der Kulturen war in den Fällen, wo wir mit der Pasteurschen Pipette die Ueberimpfung vorgenommen hatten, wo also auch das Glyzerinwasser infiziert wurde, ein ziemlich deutliches Wachstum zu beobachten. Mikroskopisch ließen sich mehr oder weniger lange, schlanke Stäbchen mit Anschwellung an einem oder beiden Enden nachweisen, die manchmal Neigung, in langen Fäden zu wachsen, zeigten. Verzweigungen konnten wir nicht konstatieren; selbst in diesen Fällen zeigte die Oberfläche der Kartoffeln kein Wachstum.

Tierversuche.

Dieselben mußten vorläufig nur auf Meerschweinchen beschränkt werden infolge der Schwierigkeiten, die die Anschaffung der Tiere in der jetzigen Zeit überhaupt bereitet. Es wurden im ganzen 4 Meerschweinchen geimpft, 2 intraperitoneal und 2 subkutan. Das eine mit 5 ccm einer 10-tägigen, schön verzweigte Formen enthaltenden Bouillonkultur intraperitoneal geimpfte Meerschweinchen magerte in den ersten 14 Tagen nach der Injektion stark ab; dann erholte es sich allmählich und ließ keine Krankheitssymptome mehr beobachten. Das andere Meer-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

schweinchen wurde mit 10 ccm einer fast lauter „Sporen“ enthaltenden, 3-tägigen Bouillonkultur geimpft. Dieselbe rief überhaupt keine Krankheitssymptome hervor. Beide Tiere wurden 3 Monate lang beobachtet und blieben am Leben.

Die beiden anderen Meerschweinchen wurden mit Quantitäten von je 3 ccm der gleichen Bouillonkultur subkutan geimpft. Das Tier, welches mit der Kokkenform des Actinomyces geimpft wurde, zeigte keine Eiterung und auch keine sonstigen Erscheinungen. Das andere Meerschweinchen, welches mit der die langen Fäden enthaltenden Bouillonkultur geimpft wurde, zeigte an der Injektionsstelle eine mehr als erbsengroße, rundliche, harte Geschwulst, welche ca. 2 Wochen unverändert blieb und nachher etwas kleiner wurde.

Chemische Leistungen.

In bezug auf die biologischen Leistungen dieses Mikroorganismus sind unsere Untersuchungen nicht ganz abgeschlossen worden. Was seine Wirkung auf die Kohlehydrate anbetrifft, so haben wir nachgewiesen, daß diese Actinomyces-Art imstande ist, verschiedene Kohlehydrate zu vergären. Aus Milchzucker konnten wir eine Azidität von 5:100 (in NaOH $\frac{N}{10}$ ausgedrückt) gewinnen; bei anderen Zuckerarten noch viel weniger. Das stimmt auch mit der bereits mitgeteilten Tatsache überein, daß dieser Mikroorganismus die Milchkulturen nicht durch Säurebildung, sondern durch Labferment zur Gerinnung bringt. Ferner bildete sich aus der Milchzuckergärung nicht Milchsäure, sondern flüchtige Fettsäuren und hauptsächlich Essigsäure.

Gruber erhielt aus seinem Mikromyces Hofmann nach 3-monatigem Verweilen im Brutschrank Spuren von Alkohol und 2,533 g Essigsäure pro Lit. Kultur. Das Gärungssubstrat von Gruber war eine Lösung von $^1/_2$ Proz. Fleischextrakt und 3 Proz. Traubenzucker, die mit einem Ueberschusse von frischgefälltem, gut ausgewaschenem Kalziumkarbonat versetzt wurde. Wir haben dagegen reine Zuckerlösung (3 g Zucker auf 100 g Wasser) verwendet, und, um das weitere Wachstum des Pilzes zu ermöglichen, haben wir große Stücke einer Agarkultur hineingetan.

Die Methode, der wir uns zur Bestimmung der flüchtigen Fettsäuren dieser Kulturen bedient haben, ist dieselbe, die ich für das Studium der Gärungsprodukte mancher Anaëroben der Buttersäuregruppen verwendet habe. Ebenso habe ich auf die interessante Eigenschaft mancher Streptothrix-, bzw. Actinomyces-Arten in bezug auf die Bindung des elementaren Stickstoffes bereits 1907 aufmerksam gemacht. Bei anderer Gelegenheit soll etwas Näheres über diese Studien mitgeteilt werden.

Diese von mir beschriebene Streptothrix steht den Hyphenpilzen noch näher als diejenige von vorliegender Mitteilung. Die Stämme zeigen eine größere Ungleichheit in ihren Durchmessern und häufigere Abschnürungen und Trennungen.

Zusammenfassung.

In dem beschriebenen Falle habe ich, wie frühere Autoren, die Erfahrung gemacht, daß der Actinomyces manchmal Kokken-, Stäbchen- und Spirillenformen annahm, ferner konnte ich wiederholt Köpfchen- oder Tetanusformen sehen, worauf meines Wissens von früheren Autoren nicht aufmerksam gemacht worden ist.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

In neuester Zeit hat **Brussoff** behauptet, daß die Annahme, daß die Aktinomyceten-Hyphen in Fragmente zerfallen können, auf irrtümlichen Beobachtungen an gefärbten Präparaten beruht; in Wirklichkeit gibt es keine Fragmentation der Aktinomyceten-Hyphen. Ebenfalls sind Kokken, Stäbchen und Spirillen der Autoren nichts anderes als ein Teil des Inhaltes der Aktinomyceten-Hyphen und bestehen aus Kokken und Ansammlungen von Tropfen von Volutin. Zum Nachweis des Volutins verwendet **Brussoff** die gleichen Reaktionen, die von **Arthur Meyer** angegeben wurden. Die 8 Hauptreaktionen habe ich auch bei meinem **Actinomyces**-Stamm mit positivem Resultate nachgeprüft. Ich kann nicht hier auf die Einzelheiten der technischen Ausführung dieser Reaktionen eingehen; es sei darüber auf die Originalmitteilung **Brussoffs** hingewiesen. **Brussoff** leugnet ebenfalls, daß der Zerfall der Hyphen in einzelne kürzere oder längere Stücke eine natürliche Erscheinung sei. Er schreibt vielmehr diese Beobachtung nur der unvorsichtigen Behandlung der Kolonien bei Herstellung der Präparate zu. Ferner schreibt **Brussoff**: „Nur verhältnismäßig selten konnte ich Stäbchen und spirillenförmige Gebilde finden, und auch diese lösten sich bei starker Vergrößerung und guter Beleuchtung (Nernstlampe) in dicht nebeneinanderliegende Kokken auf, welche man leicht mit Stäbchen und Spirillen verwechseln konnte.“ Hier geht **Brussoff** entschieden zu weit, und ich habe, recht lange, Präparate durchmustern können (wie z. B. das von Fig. 8), ohne wahrzunehmen, daß die Spirillen aus dicht aneinandergereihten Kokken bestanden. Von „Köpfchenbakterien“ macht **Brussoff** keine Mitteilung. Ich halte solche Gebilde, die ich bereits in meinen **Streptothrix**-Untersuchungen im Jahre 1907 gesehen hatte, für Konidien mit Zellschlauch, welche, anstatt sich zu einem höheren Myzel zu entwickeln, in diesem rudimentären Stadium verbleiben. Wir konnten also in dem beschriebenen Falle, der klinisch wie typische Aktinomykose aussah, einen Mikroorganismus isolieren, welcher unbeweglich ist, sich nach **Gram** färbt, lange verzweigte, teilweise wellige Fäden bildet, die sich später teilen und schließlich in Sporen zerfallen, welche wieder zu Fäden auswachsen. Diese mikroskopischen Merkmale, welche für den **Actinomyces hominis** Bostroem passen würden, schlagen, bei anaërober Züchtung des Pilzes in tiefem Agar, in das mikroskopische Aussehen um, welches für den **Actinomyces** Wolf-Israel besser passen würde. Es sind kurze und lange Stäbchen mit Endschwellungen, kurze teils gerade, teils wellig gebogene verzweigte Fäden. Daneben kokkenartige Elemente (Sporen) in älteren Kulturen.

Manche Wachstumseigentümlichkeiten unseres Mikroorganismus, sondern ihn aber von den Hauptrepräsentanten der **Actinomyces**-Gruppe, d. h. von den Varietäten von **Bostroem**, von **Wolf-Israel** und von H. **Bruns** ab. Von dieser letzteren läßt sich unser Mikroorganismus hauptsächlich wegen seines Wachstums im Bouillon trennen, ferner

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

auch dadurch, daß der Actinomyces von H. Bruns in Gelatine und Kartoffeln, wenn auch spärlich, gedeiht, unser Stamm dagegen auf diesen Nährböden gar nicht wächst. Unter den beschriebenen Actinomyces-Arten ist diejenige, welche mit unserer viele gemeinsame Merkmale besitzt, der Mikromyces Hofmanni, welcher von Gruber als eine neue, pathogene Hyphomycetenart beschrieben wurde. Diese Art wächst nicht unter 22°, Optimum 37°. Sie wächst nicht auf Kartoffeln und Gelatine, schlecht auf Serum und Agar, gut dagegen auf den übrigen festen und flüssigen Nährböden bei Zusatz von $^1/_2$—3 Proz. Zucker. In der Beschreibung von Gruber wird nicht angegeben, ob das Serum verflüssigt wurde oder nicht. Es fehlen ebenfalls die Angaben über Milchkulturen. Unser Mikroorganismus peptonisierte, wie gesagt, die Milch nach vorhergehender Koagulation, welche nicht durch Säure, sondern durch eine Art Labferment bedingt ist. Die von Gruber angegebene Kalkbildung seiner Kultur würde bis zu einem gewissen Grade auch für unseren Stamm passen. Wir konnten bei Anfertigung unserer mikroskopischen Präparate, und zwar bei Bestreichen der Objektträger mit Bouillonrasen oder noch besser mit dem Belag von alten Agarkulturen, beobachten, daß etwas Sandartiges in den Kulturen enthalten war. Ob es sich hier um Kalk handelte, wissen wir nicht und haben diesbezüglich keine weiteren Untersuchungen angestellt. Sowohl in den früheren Klassifikationen, wie z. B. der von Berestnew, von Lignières und Spitz, von Silberschmidt usw., wie auch in den neuesten Einteilungen, wie z. B. von Miescher, Ullmann etc., ist der Mikromyces Hofmanni nirgends erwähnt.

Das rührt sehr wahrscheinlich davon her, daß Gruber selbst, der diesen Mikroorganismus beschrieben hat, ihn als Luftverunreinigung aufgefaßt hat, obwohl derselbe in einer Probe menschlicher Vakzine gefunden worden war.

Es gibt aber ein ganz charakteristisches Merkmal unserer Zuckerbouillonkulturen, welche in der Beschreibung von Gruber niemals erwähnt ist, nämlich das Auftreten von typischen Kugeln. Wenn auch diese Erscheinung keine konstante ist, so ist sie jedoch eine sehr häufige und wäre der Beobachtung Grubers sicher nicht entgangen. Auf die Frage der Einteilung unseres Mikroorganismus zurückkommend, wissen wir, daß Miescher folgende Klassifikation der in die Gruppe der Aktinomykoseerreger gehörenden Mikroorganismen aufstellte:

I. Typus Actinomyces: Als Wuchsform überwiegt in den Kulturen das Stäbchen. Fäden mit echter Verzweigung kommen in wechselnder Menge vor. Wachstum vorwiegend anaërob bei Bruttemperatur. Entwicklung auf künstlichen Nährböden langsam, wenig ausgiebig. Standardform: Actinomyces Wolf-Israel.

II. Typus Streptothrix: Wachstum ausschließlich fädig mit reichlichen echten Verzweigungen. Vermehrung durch Fragmentation. Wachstum vorwiegend oder ausschließlich aërob; üppige Entwicklung.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

a) Streptothrix mit früher Fragmentation: Große Brüchigkeit der stark gekrümmten, fragmentierten Fäden. Kulturen locker, hinfällig, dem Nährboden lose aufsitzend.

Standardformen: Str. farcinica (Nocard) Str. verrucosa (Miescher).

b) Streptothrix mit später Fragmentation: Fäden solid, schön wellig verlaufend, Kolonien derb, dem Nährboden fest anhaftend, häufig zu Membranen konfluierend.

Standardformen: Str. bovis (Bostroem), Str. albidoflava (Lachner-Sandoval, Schiota).

Unsere Streptothrix würde sub Typus 2 unter b) neben Streptothrix bovis (Bostroem) und neben Streptothrix albido-flava Platz finden. Die von uns beschriebene Art bildet derbe, dem Nährboden fest anhaftende, häufig zu Membranen konfluierende Kolonien. Ihre Einteilung hierher ist nur von dem Verhalten in Milch und Gelatine, ferner von der bis jetzt bei den anderen Vertretern dieser Gruppe noch nicht erwähnten oder nicht eingehend genug gewürdigten Eigenschaft, eine zweite Wuchsform zu besitzen, etwas fraglich gemacht. Diese zweite Wuchsform besteht darin, daß manche Kulturen Kokkenkulturen gleichen, mit dem Unterschiede, daß aus denselben nachher Fäden mit Verzweigungen sich bilden. Wegen dieses Merkmals würde unser Mikroorganismus, wie gesagt, eher zu Mikromyces Hofmanni passen, welcher sehr wahrscheinlich auch in diese Unterabteilung eingereiht werden sollte. Hauptsächlich folgende Angaben von Gruber stimmen mit den kulturellen Eigenschaften unseres Mikroorganismus überein: „In solchen alten Bouillonkulturen, ebenso in alten Kulturen auf festen Nährböden, zerfällt der größte Teil der Hyphen in kurzstäbchenförmigen, zuletzt in kokkenartigen Detritus, so daß man die Kultur für verunreinigt halten könnte. Kulturen, die ausschließlich aus solchem Detritus zu bestehen schienen, erwiesen sich häufig noch entwicklungsfähig.

Nachdruck verboten.

Beitrag zur Meningokokkendiagnose.

[Aus der Abteilung: Städt. Untersuchungsamt (Leiter: Prof. Dr. C. Prausnitz) des Hygienischen Instituts der Universität Breslau (Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. R. Pfeiffer).]

Von Dr. **Erich Eichhoff.**

Die bakteriologische Diagnose des Erregers der epidemischen Genickstarre bietet auch dem geschulten Beobachter häufig Schwierigkeiten. Der mikroskopische Nachweis gramnegativer Diplokokken in der Zerebrospinalflüssigkeit erkrankter Personen läßt nur die Wahrscheinlichkeitsdiagnose der epidemischen Genickstarre zu, da neben sonstigen Bakterien auch andere, dem Meningococcus morphologisch ähnliche Erreger, wie z. B. der Micrococcus cinereus, der Micrococcus catarrhalis (Pfeiffer) und die Flavus-Gruppe, eitrige Meningitiden verursachen können. Diese eben erwähnten Arten von Erregern lassen sich jedoch leicht kulturell von den echten Meningokokken trennen. Auch agglutinatorisch unterscheiden sich diese meningokokkenähnlichen Bakterien leicht von den echten Meningokokken, denn sie werden selbst durch polyvalentes Meningokokkenserum gar nicht, oder nicht höher agglutiniert, als durch normales Serum. Eine bei dem Micrococcus catarrhalis häufig eintretende Spontanagglutination läßt sich vermeiden, wenn man die zur Agglutination benutzten Kulturen in 0,1-proz. Kochsalzlösung schüttelt.

Schwerer hingegen ist die Differenzierung der echten Meningokokken von den, von deutschen und ausländischen Autoren beschriebenen Pseudo- und Parameningokokken. Untersuchungen von Friese und Müller, welche bei einer größeren Anzahl von Soldaten während einer Grippeepidemie vorgenommen wurden, ergaben bei 45 Mann als Befund aus dem Rachen einen dem Meningococcus morphologisch und kulturell sehr ähnlichen Erreger, der jedoch agglutinatorisch sehr große Verschiedenheiten zeigte. Diese Stämme wurden als S.-Kokken bezeichnet. Die Untersuchungen über die S.-Kokken sind von Sachs-Müke bestätigt und erweitert worden. Lieberknecht fand bei einer Massenuntersuchung von Schulkindern im Nasenrachenraum Kokken, die von Meningokokkenserum nicht typisch agglutiniert wurden. Diese Kokken werden von der v. Lingelsheimschen Schule als Pseudomeningokokken bezeichnet.

Dopter nannte Diplokokken, die sich morphologisch und kulturell nicht von echten Meningokokken unterschieden, aber nur schwach agglutinabel waren, Parameningokokken.

Martha Wollstein prüfte 3 von englischen Autoren aus Fällen von Meningitis basilaris posterior gezüchtete Parameningokokkenstämme nach, und konnte durch intralumbale Einspritzung der Kulturen bei Affen akut verlaufende Meningitiden erzeugen.

Widal und Weissenbach sowie Menétrier und Brodin beobachteten beim Menschen Parameningokokkeninfektionen, die klinisch alle Zeichen der Genickstarre darboten. Letztere beiden Autoren behaupten, daß alle Parameningokokkenmeningitiden tödlich verlaufen.

Nicht nur das Vorkommen solcher, den echten Meningokokken mehr oder weniger verwandter Stämme, sondern auch das äußerst wechselvolle agglutinatorische und kulturelle Verhalten einzelner echter Meningokokkenstämme erschwert die Differenzierungsuntersuchung. Die Zeitdauer bis zum vollständigen Eintritt des Agglutinationsphänomens variiert nämlich bei verschiedenen Stämmen stark.

Von Kolle und Wassermann, Kutscher, Rautenberg, wurde sie auf 20—24 Std. angegeben. Eberle beobachtete das Agglutinationsmaximum erst nach 38—42 Std. Die Brutschranktemperatur reicht nicht immer aus, und von einigen Autoren wird für die Meningokokkendiagnose eine Temperatur von 55° empfohlen.

Wir beobachteten im hiesigen Institut Erreger, deren agglutinatorisches und kulturelles Verhalten Veranlassung zu einer Reihe von Untersuchungen boten.

Schon vor einiger Zeit züchteten wir aus einem Lumbalpunktat, welches aus der hiesigen Kinderklinik von einem 7 Monate alten Kinde stammte, gramnegative Diplokokken, die auf Choleraagar üppig wuchsen, Traubenzucker, Maltose, Lävulose unverändert ließen und nicht agglutiniert wurden. Diese Erreger wurden wiederholt aus dem Lumbalpunktat des Kindes gezüchtet, und die atypischen Befunde bestätigten sich. Das klinische Bild bot die Zeichen der akuten Zerebrospinalmeningitis, und der Pat. kam 8 Tage nach Beginn der Erkrankung ad exitum. Sektion nicht erlaubt gewesen. Leider wurde der Stamm nicht fortgezüchtet.

Zwei andere Stämme gaben Veranlassung zu weit eingehenderen Untersuchungen. Der 1. Stamm wurde aus dem stark eitrigen Lumbalpunktat eines ebenfalls an akuter Zerebrospinalmeningitis erkrankten $1^1/_2$-jährigen Kindes gezüchtet. Klinisch war der Krankheitsverlauf zunächst sehr stürmisch und der Zustand des Pat. erschien trostlos, jedoch reagierte das Kind auf 3 Lumbalpunktionen und nachfolgende intralumbale Einspritzung von Antimeningokokkenserum einmal 20 ccm, die beiden anderen Male je 10 ccm, sofort mit Temperaturabfall, und der Allgemeinzustand besserte sich schnell. Das Kind hat nach Ablauf der akuten Krankheitserscheinung das Gehör verloren, ist aber sonst geheilt. Ich konnte während der Krankheit aus dem Nasenrachenraum einen 2. Stamm züchten, der dem ersteren morphologisch und kulturell glich. Die Stämme tragen die Institutsnummern 465 Lumbal und 465 Rachen.

Bei der ersten mikroskopischen Untersuchung des Lumbalpunktates fiel eine fast ausschließlich extrazelluläre Lagerung ziemlich großer, gramnegativer Diplokokken auf. Nach Flügge und v. Lingelsheim ist zwar die intrazelluläre Lagerung des Meningococcus in vielen Fällen ausgesprochen, jedoch keineswegs charakteristisch für diesen Erreger. Die Meningokokhen werden im Lumbalpunktat häufig, manchmal sogar ausschließlich, außerhalb der Leukozyten gefunden. Immerhin war dieser Befund zunächst auffallend, um so mehr als die sonst so charakteristischen Involutionsformen hier vollkommen fehlten. Beide aus den Krankheitsprodukten des Pat. gezüchteten Diplokokkenstämme verhielten sich färberisch stets streng gramnegativ. Sie wuchsen auf Ascitesagar gut und bildeten nach 24 Std. glattrandige, runde, grau durchscheinende, etwas erhabene Kolonien. Ganz atypisch war aber ihr gutes Wachstum schon in den ersten Generationen auf anderen Nährböden, wie gewöhnlichem Agar, Choleraagar, Loeffler-Serum, Kartoffel, ja sie wuchsen sogar bei 20° reichlich in Gelatinestichkulturen.

Auf Loeffler-Serum bildete kein Stamm Pigment. Auf den von v. Lingelsheim angegebenen Ascites-Zucker-Lackmus-Agar-Nährböden wurde zunächst nur Dextrose von beiden Stämmen ganz schwach vergoren, während Lävulose und Maltose unverändert blieben. Bei später wiederholten Züchtungen auf diesen Nährböden wurde auch die Maltose verändert, jedoch nur äußerst schwach, während die zur Kontrolle benutzten echten Meningokokkenstämme die typische stark saure Reaktion hervorriefen.

Das agglutinatorische Verhalten beider Stämme zu einem frisch bezogenen Meningokokkenserum des Reichsgesundheitsamtes, sowie auch das Verhalten zweier zur Verfügung stehender Meningokokkenstämme (ein Sammlungsstamm, der ursprünglich von Prof. Kathe, Breslau, bezogen wurde, und ein von Prof. Heymann aus der Sammlung des hygienischen Instituts Berlin freundlichst zur Verfügung gestellter Stamm) einem von uns hergestellten, für den Stamm 465 Lumbal spezifischen Kaninchenserum gegenüber, veranlaßten uns, eine weitere Reihe von Agglutinationsversuchen mit verschiedenen Seren einerseits, und verschiedenen Meningokokken- und meningokokkenähnlichen Stämmen andererseits, aufzustellen. Gemäß der Vorschrift von Friese und Müller wurde auch das polyvalente Meningokokkenserum verwandt, welches nach Angabe der Firma E. Merck, Darmstadt, nur von echten Meningokokkenstämmen hergestellt wird. Jeder Versuch wurde doppelt angesetzt, einmal bei 37°, ein andermal bei 55°. Die Zeitdauer der Temperatureinwirkung betrug jedesmal 24 Std.

Aus der umstehenden Tabelle ist zu ersehen, daß die beiden unbekannten Stämme 465 Lumbal und 465 Rachen von dem Meningokokkenserum des Reichsgesundheitsamtes weder bei 37° noch bei 55° agglutiniert wurden. Auch das Serum 465 Lumbal, sowie das Eigenserum des Pat. agglutinierte bei keiner Temperatur die verfügbaren Meningokokken-

Tabelle I.

		Meningokokkenserum des Reichsgesundheitsamtes	Serum 465 Lumbal	Serum des Patienten	Lumbalpunktat des Patienten	Micrococcus catarrhalis-Serum	Polyvalent. Meningokokkenserum Merck
Stamm 465 Lumbal	37°	—	1:20 usf. bis 1:1280	1:20 usf. bis 1:640	—	—	1:25 usf. bis 1:800
	55°	—	1:20 usf. bis 1:1280	1:20 usf. bis 1:640	—	—	1:25 usf. bis 1:1600
Stamm 465 Rachen	37°	—	1:20 usf. bis 1:2560	1:20 usf. bis 1:160	—	—	1:25 usf. bis 1:1600
	55°	—	1:20 usf. bis 1:1280	1:20 usf. bis 1:160	—	—	1:25 usf. bis 1:600
Stamm 606 (Flavus-Gruppe)	37°	—	—	—	—	—	—
	55°	—	—	—	—	—	—
Micrococcus catarrhalis	37°	—	—	—	—	1:20 usf. bis 1:5120	—
	55°	—	—	—	—	—	1:25 usf. bis 1:3200 Kontr. +
Meningokokkenstamm Breslau	37°	1:25 usf. bis 1:400	—	—	—	—	1:25 usf. bis 1:800
	55°	1:25 usf. bis 1:400	—	—	—	—	—
Meningokokkenstamm Berlin	37°	1:20 usf. bis 1:1280	.	.	.	.	1:25 usf. bis 1:800
	55°	1:20 usf. bis 1:640	.	.	.	.	1:25 usf. bis 1:800

stämme. Stamm 606 (Flavus-Gruppe) wurde von keinem Serum, der Micrococcus catarrhalis-Stamm nur von seinem Eigenserum agglutiniert. Das positive Ergebnis des Agglutinationsversuches der Micrococcus catarrhalis-Kultur mit polyvalentem Meningokokkenserum bei 55° kann wegen der Agglutination der Kontrolle nicht berücksichtigt werden. Ein während der Rekonvaleszenz dem Pat. entnommenes Lumbalpunktat hatte auf keinen Stamm irgendwelchen Einfluß.

Erst das polyvalente Meningokokkenserum agglutinierte die bekannten Meningokokkenstämme und die beiden zu differenzierenden Stämme bis etwa zur gleichen Titerhöhe.

Auch in der Vergärung verschiedener Ascites-Zucker-Lackmus-Nutroselösungen zeigen die einzelnen Stämme interessante Differenzen. Diese Lösungen sind nach folgendem Rezept hergestellt: Nutrosestammlösung 1000 ccm Wasser, 10 g Nutrose, 5 g Kochsalz, 2—3 Std. im Dampftopf gekocht und filtriert. Dazu 50 ccm Kahlbaumsche Lackmuslösung, der 10 g der betreffenden Zuckerart zugesetzt worden ist. Beide Lösungen warm vermischen und auf Röhrchen abfüllen (5 ccm in ein Röhrchen), welche an 3 aufeinanderfolgenden Tagen je 10 Min. im Dampf sterilisiert werden. Nach der Sterilisation wird zu jedem Röhrchen 1 ccm steriler Ascites hinzugesetzt.

Diese Differenzierungsversuche wurden mehrmals ausgeführt. Wir ließen die Röhrchen bis zu 7 Tagen bei 37° im Brutschrank stehen. Die Versuche ergaben ein einstimmiges Resultat.

Tabelle II.

	Stamm 465 Lumbal	Stamm 465 Rachen	Meningokokkenstamm Breslau	Meningokokkenstamm Berlin	Micrococcus catarrhalis	Stamm 606 (Flavus-Gruppe)
Nutrose-Ascites-Traubenzucker	sauer	sauer	sauer	—	—	—
Nutrose-Ascites-Lävulose	—	—	—	—	—	—
Nutrose-Ascites-Maltose	—	—	—	—	—	sauer
Nutrose-Ascites-Mannit	schwach sauer	schwach sauer	sauer	sauer	—	—
Nutrose-Ascites-Saccharose	—	—	sauer	sauer	—	—
Nutrose-Ascites-Milchzucker	—	—	—	—	—	schwach sauer
Nutrose-Ascites-Galaktose	sauer	sauer	—	—	—	—

Nach v. Lingelsheim soll der echte Diplococcus Weichselbaum nur Dextrose und Maltose auf Ascites-Zucker-Lackmus-Agar vergären, während andere Zuckerarten durch ihn nicht gespalten werden.

Es scheinen demnach Unterschiede in der Vergärung fester und flüssiger Nährböden zu bestehen, denn unsere echten Meningokokken greifen in flüssigen Nährböden die Maltose nicht an, wohl aber Mannit und Sachharose. Der Stamm Berlin läßt auch in diesen Nährböden Traubenzucker unvergoren.

Bei diesen Versuchen zeigen sich deutlich Unterschiede zwischen den beiden echten Meningokokkenstämmen und den fraglichen Stämmen 465.

Welche Schlüsse dürfen wir aus unseren Untersuchungen nun auf die Identifizierung der Stämme 465 Lumbal und 465 Rachen ziehen? Daß beide Stämme untereinander identisch sind, geht aus ihrem durchweg gleichen kulturellen und agglutinatorischen Verhalten hervor.

Von echten Meningokokken unterscheiden sie sich aber deutlich

1) mikroskopisch durch das Fehlen der Involutionsformen,

2) kulturell durch das Wachsen auf eiweißfreien Nährböden und bei Zimmertemperatur, sowie dadurch, daß sie in den ersten Generationen nicht nur auf den Elektivnährböden, sondern auch auf einer Reihe anderer Nährböden üppig wachsen, daß sie auf den v. Lingelsheimschen Nährböden Maltose und Dextrose nur ganz schwach vergären, und in flüssigen Ascites-Zucker-Lackmus-Nutrosekulturen auch andere Zuckerarten spalten, resp. unvergoren lassen, als die echten Meningokokken;

3) agglutinatorisch dadurch, daß sie vom Meningokokkenserum nicht agglutiniert werden.

Die Agglutination durch das polyvalente Meningokokkenserum beweist indessen, daß die Stämme den echten Meningokokken sehr nahe verwandt sind. Die Beeinflussung des klinischen Krankheitsbildes durch Antimeningokokkenserum kann für die bakteriologische Diagnose der gefundenen Erreger nicht sehr ins Gewicht fallen, da ja bekanntlich die Lumbalpunktion als solche schon eine günstige Aenderung des Zustandes des Pat. hervorzurufen pflegt. Auch Injektionen artfremden Serums können Besserungen verursachen.

Auch der weiter oben erwähnte, von einem Pat. der Kinderklinik gezüchtete Stamm, der nur kürzere Zeit beobachtet wurde, zeigte in seinem kulturellen und agglutinatorischen Verhalten große Aehnlichkeit mit den Stämmen 465.

Wir müssen nach unseren Untersuchungen annehmen, daß die von uns beobachteten Erreger, da sie sich agglutinatorisch und kulturell anders verhalten als echte Meningokokken, zu der Gruppe der Pseudomeningokokken zu rechnen sind.

Zuletzt möchte ich noch auf den Wert des von echten Meningokokkenstämmen hergestellten polyvalenten Meningokokkenserums hinweisen, welches, wie **Friese** und **Müller** ja schon betonen, und auch unsere Versuche bestätigen, dem Meningokokkenserum überlegen und daher als wichtiges Hilfsmittel bei der Meningokokkendiagnose zu verwerten ist.

Literatur.

Arkwright, Journ. of Hyg. Vol. 7. — Dopter, Compt. rend. soc. biol. 1909. No. 25. — Widal u. Weissenbach, Centralbl. f. Pathol. 1913. — Menétrier u. Brodin, Ebenda 1912. — Friese u. Müller, Klin. Jahrb. Bd. 20. 1909. — Kutscher, Handb. v. Kolle u. Wassermann 2. Aufl. Bd. 4. 1912; Deutsch. med. Wochenschr. 1906. No. 27; Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 45. 1908. — Lieberknecht, Arch. f. Hyg. Bd. 68. 1908. — Sachs-Müke, Klin. Jahrb. Bd. 24. 1911. — Kolle u. Wassermann, Ebenda. Bd. 15. 1916. — v. Lingelsheim. Ebenda. — Flügge, Ebenda. — Rautenberg, Veröffentl. a. d. Geb. d. Milit.-Sanitätsw. 1905. H. 31. — Wollstein, Journ. of exper. Med. Vol. 11. 1909.

Nachdruck verboten.

Eutrichomastix lacertae im Blut und in blutsaugenden Milben.

Von **Eduard Reichenow** [1].

Mit 1 Tafel.

Während meines Aufenthaltes in Madrid habe ich meine früheren Untersuchungen an den Blutcoccidien der Eidechsen wieder aufgenommen und hierbei in 2 Fällen Gelegenheit gehabt, **Eutrichomastix** [2] **lacertae** im Blute zu beobachten. Befunde von Darmflagellaten im Blute der Wirbeltiere sind in den letzten Jahren eine ganze Reihe bekannt geworden. Soweit diese Ergebnisse an toten Tieren erzielt wurden, ist der Einwand nicht von der Hand zu weisen, daß die Infektion des Blutes erst nach dem Tode erfolgt sein möge; doch haben besonders die neueren Arbeiten gezeigt, daß auch im Blute lebender Wirbeltiere Flagellaten vom Typus der Darmparasiten vorhanden sein können. Den gegenwärtigen Stand der ganzen Frage erläutert am besten die nachfolgende Tabelle, in der ich hinter den Namen derjenigen Wirtstiere, die tot untersucht wurden, ein Kreuz gesetzt habe:

---

[1] Die vorliegenden Beobachtungen habe ich bereits 1918 in spanischer Sprache in dem „Boletin del Instituto Nacional de Higiene de Alfonso XIII“ mitgeteilt. Da die Arbeit an dem genannten Orte, besonders für deutsche Leser, schwer zugänglich ist, und da es sich um eine theoretisch bedeutungsvolle Frage handelt, habe ich mich entschlossen, die Ergebnisse noch einmal deutsch zu veröffentlichen. Gegenüber der spanischen Arbeit sind sachlich nur unwesentliche Aenderungen, die sich meist auf Literaturergänzungen beziehen, vorgenommen worden.

Ich benutze die Gelegenheit, um dem Direktor des „Museo Nacional de Ciencias Naturales“ in Madrid, Don I. **Bolivar**, und dem Kollegen D. A. **de Zulueta** für die mir erwiesene weitgehende Gastfreundschaft erneut meine Dankbarkeit zum Ausdruck zu bringen. Durch diese Gastfreundschaft war es mir möglich, als ich während des Krieges von Kamerun nach Madrid verschlagen wurde, in dem dortigen Museum mehr als $2\frac{1}{2}$ Jahre zu arbeiten und umfangreiche Untersuchungen auszuführen.

[2] **Kofoid** und **Swezy** (1915) haben darauf hingewiesen, daß der Name **Trichomastix** schon 1878 von **Vollenhoeven** für eine Hymenopteren-Gattung vergeben worden ist. Sie geben daher als Flagellatengattung **Trichomastix**, **Blochmann** 1883 den Namen **Eutrichomastix**.

Flagellatengattung	Wirt	Beobachter
Leptomonas	Anatolis (carolinensis?) — Eidechse	Leger 1918
	Taube	Ed. u. Et. Sergent 1907
	Reh †	Knuth 1909[1]
	Hausmaus, Senegambien (Art unbek.)	Dutton u. Todd 1903
	Maus (England)	Fantham u. Porter 1915
	Gerbillus pygargus	Balfour 1916
Bodo	Lacerta sp.	Labbé 1894
Lamblia	Elanus coeruleus, Raubvogel †	Gonder 1911
Hexamitus	Rana esculenta	Danilewsky 1889, Labbé 1894, Ponselle 1919
	Rana temporaria[2]	Ponselle 1919
	Rana catesbiana †	Plimmer 1912
	Emys lutaria (= orbicularis)	Danilewsky 1889
	Cyclemys trifasciata †	Plimmer 1912
	Cistudo carolina †	„ „
	Testudo angulata †	„ „
	Lacerta sp.	Labbé 1894
Trichomonas[3]	Coluber leopardinus †	Plimmer 1912
	Naia tripudians †	„ „
	Heterodon simus †	„ „
	Python sebae †	„ „
Tetratrichomonas	Huhn	Martoglio 1917
Eutrichomastix	Tarentola mauritanica-Gecko	Chatton 1918
	Lacerta muralis	Reichenow 1918
	Lacerta viridis †	„ „

Ueber die wichtige Frage, ob die gefundenen Flagellaten als echte Blutparasiten oder als aus dem Darme stammende Schmarotzer zu betrachten sind, sind die Meinungen geteilt. Gonder und Martoglio neigen der ersten Ansicht zu, und Martoglio hat den Blutparasitismus sogar für ein ausreichendes Merkmal gehalten, um darauf eine besondere Gattung (Haemotrichomonas) zu begründen; Labbé, Plimmer, Chatton und Leger vermuten dagegen in ihren Fällen eine Einwanderung vom Darme aus, wo sie morphologisch übereinstimmende Formen gefunden haben. Meine eigenen Beobachtungen beweisen für Eutrichomastix lacertae die Richtigkeit der Vermutung Chattons.

---

1) Knuth gibt an, daß bei den von ihm beobachteten Flagellaten die Geißel „aus zwei eng durch ein schmales Band miteinander verbundenen Fäden besteht". Danach würde hier nicht eine Leptomonas, sondern eine Herpetomonas nach der Begriffsbestimmung Prowazeks vorliegen.

2) Experimentelle Uebertragung von R. esculenta.

3) Plimmer gibt keine Beschreibung der Flagellaten, doch zeigt die in seiner Arbeit (1912a) enthaltene Fig. 2 deutlich 4 freie Geißeln und keine Spur einer undulierenden Membran, so daß es sich bei den Parasiten — wenigstens teilweise — offenbar um Eutrichomastix handelt.

Bei den Eidechsen der Umgegend Madrids ist Eutrichomastix lacertae bei weitem der häufigste und zahlreichste Darmflagellat; er wird kaum bei einem Tiere vermißt. In den 5 Eidechsenarten, auf die sich meine Beobachtungen in dieser Hinsicht erstrecken, nämlich Lacerta muralis, L. viridis, L. ocellata, Psammodromus hispanicus und Acanthodactylus vulgaris, habe ich keine morphologischen Unterschiede der Flagellaten wahrgenommen, so daß es sich offenbar in allen Wirten um die gleiche Art handelt. Die Parasiten bevölkern in großen Massen die Kloake und den Enddarm; besonders zahlreich habe ich sie im Blinddarm beobachtet, der sich als eine mehr oder weniger ausgeprägte, flache Aussackung am Anfang des Enddarmes befindet. Hier stellen die Flagellaten, wie Schnittpräparate zeigen, manchmal geradezu einen Ausguß der Blinddarmhöhle dar. Im Mitteldarm fehlt Eutrichomastix unter normalen Verhältnissen oder findet sich doch nur in spärlicher Zahl hauptsächlich im hinteren Teile.

Bei entzündlichen Erkrankungen des Mitteldarms vermehren sich die Flagellaten außerordentlich. An Stellen, wo das Epithel zerstört ist, dringen sie in die Submukosa ein, wo sie sich nesterartig anhäufen können. Bei einem jungen Acanthodactylus, der an einer Darmerkrankung eingegangen war, zeigten mir Schnittpräparate die Mukosa in der ganzen Länge des Mitteldarmes völlig zerstört und nur noch in einigen Fetzen der Submukosa aufsitzend, die Submukosa bis an die Muskularis ganz und gar mit Eutrichomastix durchsetzt. In diesem Falle waren die Parasiten sogar in die Pankreas- und Gallengänge, sowie in großen Massen bis in den Magen vorgedrungen, dessen Epithel übrigens völlig unverletzt und normal erschien.

In allen pathologischen Fällen hat sich kein Anhalt dafür ergeben, den Flagellaten eine ursächliche Rolle bei der Darmerkrankung zuzuschreiben. Insbesondere habe ich nie ein aktives Eindringen in die Zellen der Mukosa beobachtet, wie dies kürzlich Hadley (1917) für Trichomonas bei Vögeln beschrieben hat. Die Zunahme der Parasiten und ihr Eindringen in das Gewebe des Wirtes erfolgt offenbar erst, wenn ihnen durch den Krankheitsprozeß die günstigen Lebensbedingungen geschaffen sind und der Weg geöffnet ist. Welchen Einfluß sie dann auf den Krankheitsverlauf ausüben, ist natürlich hier, wie in allen ähnlichen Fällen, sehr schwer zu entscheiden. Ihre Wirkung braucht nicht notwendig eine ungünstige zu sein; als Bakterienvertilger könnten sie im Gegenteil dem erkrankten Tiere zum Nutzen gereichen.

Wenn bei Darmerkrankungen infolge der Epithelzerstörung Eutrichomastix sich in der Submukosa ausbreitet, so ist durch die dortigen Kapillaren ja ohne weiteres der Weg gegeben, auf dem der Flagellat in den Blutstrom gelangen kann. Der gleiche Weg kann sich aber auch bei gesunden Tieren eröffnen. Offenbar sind kleine Epithelverletzungen, die vielleicht durch die in großen Mengen den Darm durchwandernden Chitintrümmer der Insektennahrung oder durch andere Ursachen herbeigeführt werden, im Darme der Eidechsen nicht selten. Daß sie vorkommen und daß sie dem Eutrichomastix zur Eintrittspforte dienen können, zeigt jedenfalls das in Fig. 1 wiedergegebene Bild, das mir bei den aus anderen Gründen vorgenommenen Untersuchungen zahlreicher Darmschnitte von Eidechsen zufällig begegnet ist. Es handelt sich hier um einen sofort nach dem Töten der Eidechse (eines jungen Psammodromus hispanicus) konservierten Darm, dessen im übrigen völlig normales und unversehrtes Epithel an einer Stelle infolge Zerstörung

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

mehrerer Zellen ein kanalartiges Loch aufweist, in dessen Tiefe einige Bakterien vorhanden sind. Durch diesen Kanal ist ein Eutrichomastix eingedrungen und befindet sich in einer Lymphspalte der Bindegewebsschicht der Mukosa.

Die beiden Eidechsen, bei denen ich Eutrichomastix in großer Zahl im Blute beobachtet habe, sind eine Lacerta muralis und eine Lacerta viridis. Beide Eidechsen wurden am 26. Mai 1918 am gleichen Orte gleichzeitig mit einer anderen viridis und 2 anderen muralis gefangen und dann in getrennten Behältern, jede zusammen mit mehreren Artgenossen, aufbewahrt. Die muralis starb am 10. Juli, die viridis am 14. Juli. Ob in diesem Parallelismus der beiden Fälle mehr als ein Zufall zu erblicken ist, muß dahingestellt bleiben.

Die Lacerta muralis fiel schon mehrere Tage vor ihrem Tode durch geringe Munterkeit auf. Als sie am Abend des 9. Juli aus dem Behälter genommen wurde, um, wie schon vorher mehrmals, über Nacht Milben an ihr saugen zu lassen (zu Experimenten mit den Blutkokzidien), zeigte sie sich besonders matt und schläfrig. Am nächsten Morgen war es offenbar, daß sie im Sterben lag und um 10 Uhr vormittags ging sie ein. Bei der 1 Std. später vorgenommenen Untersuchung des Schwanzblutes fanden sich lebhaft bewegliche Eutrichomastix in so großer Zahl, daß in dem sehr dünnschichtigen Präparat jedes Gesichtsfeld der Immersion mehrere Flagellaten enthielt. Die geformten Blutelemente erschienen im frischen wie im konservierten Präparat normal, und Bakterien wurden nicht gefunden, womit natürlich nicht die völlige Sterilität des Blutes behauptet werden soll. Obgleich es kaum denkbar war, daß diese starke Flagellateninfektion erst intra oder post mortem eingetreten sein konnte, wurde sogleich eine der Milben untersucht, die nachts Blut der Eidechse gesaugt und sie schon vor Tagesanbruch verlassen hatten. Auch diese Milbe beherbergte in ihrem Darme ebenso zahlreiche und ebenso bewegliche Eutrichomastix, wie sie sich im Blute vorgefunden hatten.

Die weitere Untersuchung der Eidechse ergab, daß Kloake und Enddarm den Flagellaten in außergewöhnlich großen Massen enthielten, sowie daß deren Epithel völlig zerstört und abgestoßen war. Die Möglichkeit eines Uebertritts der Parasiten in das Blut war also schon durch diesen Befund genügend klargestellt. In dem Zupfpräparat eines Stückes vom Mitteldarm fanden sich nur spärliche Flagellaten, die offenbar aus den in dem Organstück enthaltenen Blutkapillaren stammten. Dagegen wies ein zerzupftes Stückchen der Niere sehr zahlreiche Eutrichomastix auf, was auf eine starke Infektion entweder der Niere oder der Leibeshöhle schließen ließ. Es wurde daher eine Niere mit Ureter und einem Stück der Kloake konserviert und auf Schnitten untersucht.

Diese Präparate zeigten, daß die Wand der Kloake völlig zerstört und mit Flagellaten ganz und gar durchsetzt war. Die Oberfläche der Niere war von ihnen in ungeheuren Massen geradezu tapeziert, auch die Falten zwischen den Nierenlappen waren vollgestopft. In gleicher Weise mit Eutrichomastix bedeckt waren einige auf den Schnitten vorhandene Fetzen des Peritoneums. Ueberall wimmelte es von großen Phagozyten, die neben zahlreichen Parasiten Reste von Erythrozyten und andere Zelltrümmer enthielten (Fig. 9).

Einen bedeutend geringeren Grad als die Infektion der Leibeshöhle erreichte die der Niere. Ureter und Sammelgänge waren zwar gleichfalls mit den Protozoen angefüllt, doch waren sie in den Nierenkanälchen nur an wenigen Stellen und in spärlicher Zahl zu beobachten. Bei einem großen Teil der Nierenkanälchen beobachtete man Degeneration und Zerfall des Epithels. Einige Male fanden sich ein paar Eutrichomastix zwischen den auseinanderfallenden Epithelzellen, so daß auch hier das mikroskopische Bild eine Bresche zeigte, durch die den Flagellaten der Weg ins Blut offen stand. Dies war jedoch ein Ausnahmebefund; in der Regel fehlten an den degenerierten Stellen die Flagellaten gänzlich, so daß diese keinesfalls unmittelbar für das pathologische Bild in der Niere verantwortlich gemacht werden können. Es macht vielmehr den Eindruck, als ob eine auf unbekannter Ursache beruhende Nierenerkrankung die Grundlage für die ganze Ausbreitung der Flagellaten gebildet hat.

Die im Blute schmarotzenden Eutrichomastix habe ich an feucht konservierten, mit Delafield, Heidenhain oder Azur-Eosin gefärbten Ausstrichen von Schwanz- und Herzblut untersucht. Es handelt sich nicht einfach um eingewanderte Formen, sondern der nicht seltene Befund von Teilungsbildern beweist, daß eine lebhafte Vermehrung im Blute selbst erfolgt ist. Vergleicht man die Flagellaten im Blute mit denen in der Kloake, so stimmen sie an Form und Größe zwar mit diesen überein, sie unterscheiden sich aber sehr auffällig in Bezug auf gewisse Protoplasmaeinschlüsse, wodurch deutlich die große Verschiedenhei der Lebensbedingungen in beiden Fällen zum Ausdruck kommt. Besonders geeignet für diesen Vergleich sind die mit Delafields Hämatoxylin gefärbten Präparate.

Von den Flagellaten in der Kloake weist die große Mehrzahl keinerlei chromatisch gefärbte Einschlüsse in ihrem Protoplasma auf. Einige Individuen enthalten spärliche, meist nur 1 oder 2, kleine Volutinkörner, die an dem roten Farbton, den sie mit Delafields Hämatoxylin annehmen, deutlich kenntlich sind. Bei anderen finden sich undeutlich begrenzte, nicht sehr dunkel gefärbte Gebilde, bei denen es fraglich ist, ob es sich um Reservestoffe oder Reste geformter Nahrung, wie etwa Bakterien, handelt. Deutliche Bakterien habe ich im Körper der Protozoen nicht gesehen.

Völlig fehlen dagegen in der Kloake Formen, wie sie im Blute die Regel bilden und die sich dadurch auszeichnen, daß sie mit zahlreichen kugligen Einschlüssen verschiedener Größe erfüllt sind. Einige Typen aus dem Blute sind in Figg. 2—5 dargestellt. Dei Begeißelung ist in den Figuren nicht wiedergegeben, da sie bei Delafield-Färbung nur unvollständig erkennbar ist; gute Geißelfärbung habe ich nur mit Heidenhains Hämatoxylin erzielt (Fig. 6)[1]. Ganz einschlußfreie Eutrichomastix kommen zwar auch im Blute vor, sind aber in der Minderzahl. Auch Formen mit nur wenigen und kleinen Inhaltskörpern sind selten. Häufig liegen diese Gebilde in 2 regelmäßigen Reihen hintereinander, eine Anordnung, die lediglich durch die unverrückbare Gestalt des Achsenstabes bedingt ist (Fig. 5). Die kleineren Körner zeigen gewöhnlich deutliche rote Volutinfärbung, die größeren sind mehr violett, teils blasser, teils lebhafter gefärbt; auch finden sich blassere Kugeln mit dunklerem Mittelpunkt (Fig. 2).

---

[1] Nebenbei bemerkt, zeigen bei Heidenhain-Färbung zahlreiche Individuen ein stark geschwärztes, fadenartiges Gebilde, das, anscheinend aus mehreren auf- und absteigenden Schenkeln bestehend, den Kern umgibt. Dieses Gebilde, das auch in Fig. 6 angedeutet ist, stellt offenbar einen Parabasalapparat dar (vgl. Janicki, 1915).

Da zwischen den verschiedenen Formen der Einschlüsse alle Uebergänge vorhanden sind, glaube ich, daß es sich durchweg um Volutin handelt. In einer früheren Arbeit über Haematococcus (1909), in der ich die Bedingungen des Auftretens des Volutins und seine Bedeutung für den Organismus näher untersucht habe, habe ich gezeigt, daß das färberische Verhalten dieses Reservestoffes, je nach den Ernährungsbedingungen und dem physiologischen Zustand der Zelle, wechseln kann. Was wir als Volutin zusammenfassen, sind nach meiner, in der angeführten und in späteren Arbeiten vertretenen Auffassung verschiedene Organisationsstufen für die Bildung der Nukleoproteide des Kernes. Der Verbrauch dieser Stoffe steht somit im Zusammenhang mit der Geschwindigkeit der Kernvermehrung, ihre Entstehung dagegen ist abhängig von dem Phosphorreichtum der Nahrung [1]).

Wenn wir die Eutrichomastix im Eidechsenblut von so großen Volutinmassen erfüllt finden, so dürfen wir daraus nicht ohne weiteres auf eine besonders phosphorreiche Ernährung schließen, denn aus dem oben Angedeuteten ergibt sich, daß auch eine im Verhältnis zu der Darmform stark herabgesetzte Vermehrungsgeschwindigkeit eine derartige Anhäufung bewirken kann. Ueberhaupt ist der Volutinreichtum der Formen im Blute nur für den Vergleich mit den übrigen in derselben Eidechse vorhandenen Eutrichomastix von Bedeutung, da er uns einen unmittelbaren Einfluß des veränderten Mediums erkennen läßt; keinesfalls ist darin eine Eigentümlichkeit der Blutflagellaten zu erblicken, denn Anhäufungen von Inhaltsstoffen, bei denen es sich offenbar gleichfalls um Volutin handelt, sind sowohl bei Eutrichomastix als bei anderen Darmflagellaten schon oft beschrieben worden.

Es sei hier gleich angefügt, daß auch in dem zweiten bereits erwähnten Falle bei einer Lacerta viridis zahlreiche Flagellaten mit viel Volutin zur Beobachtung kamen; das Bild war etwa das gleiche wie im Blute der muralis. Im übrigen ist über diesen zweiten Fall folgendes zu bemerken: Die Eidechse zeigte schon einige Zeit vor dem Tode schnell zunehmende Abmagerung; leider aber kam mir erst, als ich sie am Morgen des 14. Juli tot auffand, der Gedanke, ob hier vielleicht ein ähnlicher Fall wie der wenige Tage vorher beobachtete vorlag. Es läßt sich daher auch in diesem Falle nichts darüber aussagen, wie lange die Blutinfektion bestanden haben mag [2]). Die Blutuntersuchung zeigte auch hier die Blutkörper noch völlig unversehrt, doch fanden sich zahlreiche Bakterien vor. Da die Eidechse aber offenbar schon mehrere Stunden tot war, kann die Bakterieninfektion post mortem erfolgt sein. Die Flagelatenmenge im Blut war noch bedeutend größer als im ersten Falle; in jedem Gesichtsfelde des Blutpräparates wimmelte es von ihnen. Teilungsformen waren gleichfalls nicht selten.

Natürlich ist es auch in diesem Falle ausgeschlossen, daß diese Ueberschwemmung des ganzen Blutgefäßsystems mit Massen von Eutrichomastix in den paar Stunden nach dem Tode erfolgt sein könne. Für eine Neigung des Eutrichomastix, nach dem Tode des Wirtes in größerer Menge in dessen Blut überzutreten, finden sich überhaupt keinerlei Anhaltspunkte; bei den zahlreichen, im Laufe meiner Kokzidienuntersuchungen vorgenommenen Blutprüfungen gestorbener Eidechsen müßten sonst hin und wieder vereinzelte Flagellaten zur Beobachtung gekommen sein.

---

[1]) Der von mir festgestellte Einfluß des Phosphorgehalts des Mediums auf die Volutinbildung ist neuerdings von Herwerden (1917) und Doflein (1918) bestätigt worden.

[2]) Daß die Blutinfektion mit Darmflagellaten durch einen recht langen Zeitraum anhalten kann, lehren die Beobachtungen Ponselles (1919). Er fand am 6. Dez. 1917 im Blute eines frisch gefangenen Frosches zahlreiche Hexamitus, die dort bis zum Tode des Tieres am 1. März 1918 vorhanden waren und an Zahl noch zunahmen.

Von einer histologischen Untersuchung wurde bei der Lacerta viridis im Hinblick auf möglicherweise bereits eingetretene postmortale Veränderungen abgesehen. Das Blut wurde am Nachmittag des 15. Juli nochmals untersucht. Da die Laboratoriumstemperatur damals im Durchschnitt 30° C betrug, waren die geformten Blutbestandteile bereits völlig zerstört und die Flüssigkeit wimmelte von Bakterien. Die Flagellaten waren noch immer zahlreich; unter ihnen fand ich einige mit undulierender Membran, die also als Trichomonas lacertae zu bezeichnen wären. Da sowohl im frischen wie im gefärbten Präparat vom Tage vorher derartige Formen vermißt wurden, so ist dieser Befund auffällig; er könnte vielleicht zugunsten der Dofleinschen Ansicht, daß Eutrichomastix und Trichomonas gewissermaßen nur 2 Wuchsformen der gleichen Art seien, dienen.

Wie in der Leibeshöhle, reagiert auch im Blute der Organismus auf die Parasiten mit einer regen Tätigkeit der Phagozyten, die ich in beiden Fällen beobachtet habe. Die Zellen, die ich mit mehr oder weniger stark verdauten Eutrichomastix beladen gesehen habe, waren entweder vom Typus der Lymphozyten (Fig. 7), oder sie stellten große Freßzellen — vielleicht große Mononukleäre — dar, die neben den Flagellaten auch Erythrozyten in verschiedenen Graden der Verdauung sowie braune Pigmentkörner enthielten (Fig. 8). Diese letzteren stimmten im Aussehen also mit jenen eigenartigen Zellformen überein, die bei den Wirbeltieren besonders häufig in der Leber angetroffen werden und die dort ihren Ursprung vom Endothel der Blutgefäßkapillaren nehmen. Auf diese Zellen werde ich in meiner Arbeit über die Blutkokzidien der Eidechsen näher einzugehen haben.

Wenn eine so starke Blutinfektion mit Eutrichomastix, wie sie die beiden beschriebenen Fälle zeigen, auch offenbar nur unter pathologischen Verhältnissen auftreten wird, so spricht doch der in Fig. 1 dargestellte Befund dafür, daß ein Eindringen einzelner Eutrichomastix in die Blutbahn ziemlich häufig erfolgen mag. Wenn der Flagellat also unter normalen Verhältnissen fähig wäre, sich im Blute seines Wirtes auszubreiten, so müßten wir ihn dort viel öfter in größerer Menge antreffen. Ganz im Gegenteil führt aber nicht einmal jede entzündliche Darmerkrankung zu einer ausgedehnteren Blutinfektion mit Eutrichomastix. So habe ich selbst in dem oben beschriebenen Falle eines Acanthodactylus, in dem die Submukosa des ganzen Mitteldarmes mit Eutrichomastix durchsetzt war, im Blute keine Flagellaten gefunden. Daraus ergibt sich, daß die Parasiten nur dann in größerer Zahl im Blute auftreten, wenn dort besondere Bedingungen erfüllt sind, die ihnen eine Vermehrung im Blute selbst gestatten. Welcher Art diese Bedingungen sind, darüber geben vielleicht die Beobachtungen Chattons (1918c) Aufschluß, die dafür sprechen, daß Eutrichomastix nur dann zur Teilung befähigt ist, wenn ihm außer flüssiger auch geformte Nahrung (Bakterien oder Zelltrümmer) zur Verfügung steht. Eine starke Anämie der Eidechse, in der Labbé bei seinen Flagellaten-Befunden (Bodo, Hexamitus) die Ursache für deren zahlreiches Auftreten im Blute sieht, kommt bei Eutrichomastix nicht in Betracht;

in den beiden oben beschriebenen Fällen war von Anämie, die in der Färbung der Organe sehr deutlich zum Ausdruck kommt, nichts zu bemerken.

Der bei gesunden Eidechsen in den Blutstrom geratene Eutrichomastix bleibt dort zwar am Leben, teilt sich aber nicht und fällt früher oder später dem Angriffe eines Phagozyten zum Opfer. Die Anzahl der Individuen bleibt daher so gering, daß sie bei einer mikroskopischen Untersuchung nur durch Zufall zur Beobachtung kommen können. Die Richtigkeit dieser Annahme wird durch die Ergebnisse Chattons (1918a, b) beim Gecko bestätigt. Von 1093 Geckonen, deren Blut untersucht wurde, war nur bei einem im Ausstrichpräparat Eutrichomastix nachzuweisen, dagegen entwickelte sich von 136 Fällen, in denen Blut auf einen geeigneten Nährboden verimpft wurde, 3mal eine Kultur der Flagellaten. Da zu vermuten ist, daß nicht in allen Fällen, in denen die verimpfte Blutmenge vielleicht nur einen Parasiten enthielt, der Kulturversuch erfolgreich gewesen sein wird, so dürfte der Prozentsatz der Geckonen, in deren Blut Eutrichomastix vorhanden war, noch höher gewesen sein.

Bei dieser Sachlage ist damit zu rechnen, daß die an den Eidechsen stets zahlreich schmarotzenden Milben der Art Liponyssus saurarum, die die Ueberträger der Blutcoccidien sind, mit dem Eidechsenblute auch hin und wieder einen Eutrichomastix in sich aufnehmen. Ich habe daher den glücklichen Zufall, daß sich an dem flagellatenreichen Blute der Lacerta muralis etwa 20 Weibchen der genannten Milbenart gesättigt hatten, benutzt, um das Schicksal des Eutrichomastix in der Milbe zu verfolgen.

Bezüglich der Biologie dieser Milben verweise ich auf meine früheren Angaben (1913). Hier sei nur bemerkt, daß ein Weibchen nach dem ersten Saugakt bei warmer Temperatur (20—30° C) 7—8 Tage zur Verdauung benötigt, nach welcher Zeit es zu neuer Blutaufnahme bereit ist. Die Verdauung erfolgt auf intrazellularem Wege, indem die mit Pseudopodien versehenen Darmepithelzellen alle geformten Bestandteile der Nahrung in ihr Inneres befördern, wie ich dies in einer besonderen Mitteilung näher geschildert habe (1918).

Folgende Untersuchungen von Milben wurden ausgeführt:

Am 10. Juli, also am gleichen Tage, an dem die Eidechse starb, eine Milbe im frischen Zupfpräparat: der Darminhalt zeigt das gleiche Bild, wie das der Eidechse entnommene Blut.

13. Juli. Eine Milbe frisch: im Darminhalt mäßig zahlreiche, lebhaft bewegliche Eutrichomastix. Eine Milbe zerzupft und konserviert, gefärbt mit Delafields Hämatoxylin: massenhaft Eutrichomastix, auch Teilungsformen vorhanden; die Flagellaten haben sich offenbar stark vermehrt.

14. Juli. Zupfpräparat einer Milbe, gefärbt mit Heidenhains Hämatoxylin: Flagellaten nicht ganz so zahlreich, wie im gefärbten Präparat vom Tage vorher. Eine Milbe in Schnitte zerlegt, gefärbt mit Delafield: Große Massen von Eutrichomastix frei in der Darmhöhle, einzelne Teile des Darms lediglich von den Flagellaten erfüllt.

In der Nacht vom 19. zum 20. Juli hat ein Teil der Milben erneut an einer Eidechse Blut gesaugt.

23. Juli. Eine Milbe, die zum zweitenmal gesaugt hat, frisch: Zahlreiche lebhaft bewegliche Eutrichomastix. Eine Milbe, die nicht wieder gesaugt hat, frisch: Eutrichomastix nicht sehr zahlreich.

Aus den obigen Befunden geht hervor, daß die Flagellaten in keiner der untersuchten Milben, auch nicht nach erneuter Blutaufnahme, verschwunden sind, wenngleich ihre Zahl in einigen Fällen offenbar abgenommen hat. In mindestens der Hälfte der Fälle aber hat

Eutrichomastix im Milbendarme eine starke Zunahme erfahren. Besonders bemerkenswert an dem Verhalten der Flagellaten ist, daß es der großen Mehrzahl von ihnen gelingt, der phagozytären Tätigkeit der Darmepithelzellen zu entgehen. Verhältnismäßig selten habe ich Eutrichomastix im Innern dieser Zellen angetroffen. Aber auch in diesen Fällen begegnet uns ein ganz anderes Bild, als etwa in den Phagozyten der Eidechse (vgl. Fig. 10 mit Figg. 7—9); die Parasiten liegen, zytologisch völlig unverändert, in großen Vakuolen, was dafür spricht, daß die Freßzellen auch den aufgenommenen Flagellaten nichts anhaben können. Eine der intrazellulären Eutrichomastix in Fig. 10 befindet sich, wie ersichtlich, in Teilung.

Ueber die Morphologie der Flagellaten in der Milbe ist zu bemerken, daß sie in dem Präparat vom 13. Juli dadurch auffielen, daß sie im Durchschnitt deutlich größer als die Formen in der Eidechse waren, ein Unterschied, der auch beim Vergleich der Fig. 10 mit den Figg. 2—6 zum Ausdruck kommt. Dieses Größerwerden ist offenbar nur vorübergehend und hängt wohl mit dem Wechsel des Mediums zusammen; in den späteren Präparaten ist mir ein Größenunterschied nicht mehr aufgefallen. Bemerkenswert ist dagegen das völlige Verschwinden der großen Volutinmassen, wodurch die Formen im Milbendarm denen im Eidechsendarm wieder ähnlicher werden.

Die glänzende Anpassung, die Eutrichomastix lacertae an den Aufenthalt in der Milbe zeigt, erscheint mir in hohen Maße überraschend. So günstige Bedingungen für das Erhaltenbleiben finden wir nicht einmal für die Blutkokzidien der Eidechse gegeben, für die Liponyssus saurarum doch den echten Ueberträger darstellt. In vielen Fällen wird es genügen, daß nur ein Eutrichomastix beim Blutsaugen in den Milbendarm gerät, damit, wenn die Milbe zu erneuter Blutaufnahme schreitet, dort bereits eine ganze Kolonie vorhanden ist. Mit dieser Möglichkeit kann der Milbe eine Rolle als Ueberträger des Flagellaten zufallen.

In meiner Arbeit über Karyolysus lacertae habe ich dargestellt, daß die Uebertragung dieser Form dadurch erfolgt, daß die Nachkommenschaft derjenigen Milbe, die sich an einer Eidechse infiziert hat, von einer anderen Eidechse gefressen wird. In einer künftigen Veröffentlichung (vgl. Reichenow 1919) werde ich Fälle anderer Eidechsencoccidien mitzuteilen haben, in denen die Uebertragung durch die infizierte Milbe selbst erfolgt, wenn diese, nachdem sie an einem geschützten Ort ihre Verdauung beendet hat, eine neue Eidechse aufsucht. Meist wird sie nicht in nüchternem Zustande, sondern erst, wenn sie vollgesogen und schwerfällig ihren Wirt verläßt, von diesem erspäht und verschluckt werden. Dieser Umstand ist für die Uebertragung von Wichtigkeit, da die nüchternen Milben wegen ihres starken Chitinpanzers für die Eidechse schwer verdaulich sind und oft völlig unverändert im Kot wieder ausgeschieden werden, während sie prall mit Blut gefüllt, wie ohne weiteres einleuchtet, im Darme leicht zerplatzen.

Es ist klar, daß die letzterwähnte Uebertragungsweise auch für Eutrichomastix in Betracht kommt. Ich habe daher in dieser Richtung einen Versuch ausgeführt. Hierfür kam nur eine ganz junge Eidechse in Betracht, da ein älteres Eutrichomastix-freies Tier kaum zu finden ist. Da mir vom Jahre vorher bekannt war, daß in der Umgebung Madrids die ersten jungen Lacerta muralis in der 2. Hälfte des Juli aus den Eiern schlüpfen, suchte ich mir ein solches Tier zu verschaffen. Am 21. Juli fand ich die erste junge Eidechse. Der Um-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

stand, daß dies die einzige junge war, die ich an dem Tage an dem muralis-reichen Orte beobachtete, spricht noch besonders dafür, daß es sich um ein ganz frisch ausgeschlüpftes Tier handelte. Der mit dieser Eidechse vorgenommene Versuch verlief folgendermaßen:

Der Behälter des Tieres wurde als feuchte Kammer eingerichtet, um ein Eintrocknen des Kotes zu verhindern. Am 22. und 23. wurden bei gründlicher Kotuntersuchung keine Flagellaten gefunden. Am 23. 12 Uhr mittags wurden 3 Milben, die seit dem 10. Juli kein Blut wieder gesogen hatten, verfüttert.

24. Juli, 9 h V.: 4 Milben, nüchtern seit 10. Juli, und 7 Milben, die in der Nacht vom 19. zum 20. erneut Blut gesogen haben und noch ziemlich prall sind, verfüttert.

25. Juli, 9 h V.: Der Kot enthält 3 gut erhaltene Milben, die offenbar erst bei Herstellung des Präparates etwas zerquetscht worden sind. Mehrere lebhaft bewegliche Eutrichomastix kommen zur Beobachtung, die wohl erst im Präparat aus den gequetschten Milben ausgetreten sind.

25. Juli, 4 h N.: In frischem Kot finden sich zahlreiche Milbenreste, die mehr oder weniger stark mazeriert sind, so daß in den Milben enthaltene Eutrichomastix im Darme frei geworden sein können. Der Kot enthält keine Eutrichomastix.

26. Juli, 9 h V.: Im Kot Reste eine Milbe, keine Eutrichomastix.

27. Juli, 9 h V.: In der Nacht abgelegter Kot enthält keine Flagellaten.

27. Juli, 10 h V.: In frischem Kot findet sich ein beweglicher Flagellat, anscheinend Eutrichomastix.

28. Juli, 12 h M.: Es wird kein Kot, sondern nur ein weißer Harnklumpen ausgeschieden; dieser enthält keine Flagellaten.

29. Juli, 9 h V.: Kein Kot vorgefunden. Beim Anfassen des Tieres wird ein Harnklumpen entleert, der keine Flagellaten enthält. Bei leichtem Druck auf den Unterleib wird ein Kotballen ausgeschieden. Dieser enthält stark zerfallene Chitinreste mehrerer Milben und wimmelt von großen Massen Eutrichomastix.

29. Juli, 6 h N.: Eidechse getötet. Darmschnitte zeigen, daß der ganze Mitteldarm frei von Flagellaten ist, während der Enddarm in seiner ganzen Länge von großen Massen Eutrichomastix erfüllt ist.

Ich glaube, das Ergebnis des Infektionsversuches ist so eindeutig, daß man kaum den Einwand erheben kann, die Eidechse sei vielleicht schon vor dem Fange mit Eutrichomastix infiziert gewesen. In einem solchen Falle hätten die Flagellaten mindestens 7 Tage benötigt, bis sie im Kot überhaupt nachweisbar wurden, um dann plötzlich innerhalb 48 Std. zu ungeheuren Massen anzuwachsen. Im übrigen ist die Einverleibung der Flagellaten im Innern der Milben ein so günstiger Weg, um sie wohlbehalten in die hinteren Darmteile gelangen zu lassen, daß lediglich ein Nichtgelingen dieses Infektionsversuches hätte überraschen können.

Bemerkenswert an diesem Versuch ist auch, daß sich die frische Flagellateninfektion zunächst auf den Enddarm beschränkt; eine Einwanderung der Parasiten in die Kloake scheint nur allmählich stattzufinden.

Natürlich kann nicht gefolgert werden, daß der geschilderte Vorgang die gewöhnliche Uebertragungsweise für Eutrichomastix lacertae darstellt; aus den angeführten Tatsachen dürfte aber hervorgehen, daß er sicherlich unter natürlichen Verhältnissen vorkommt und daß er vielleicht gar nicht sehr selten ist. Außer den oben mitgeteilten Befunden habe ich einmal später in einer frisch untersuchten Milbe mehrere bewegliche Eutrichomastix angetroffen; leider konnte in diesem Falle die Eidechse, an der die Milbe gesogen hatte, nicht mehr untersucht werden. Da im Laufe meiner Coccidienuntersuchungen hunderte von Milben zur Beobachtung gekommen sind, würde dieser eine Befund nicht gerade für ein häufiges Auftreten der Flagellaten in der Milbe sprechen; doch ist zu berücksichtigen, daß die Milben nur zum kleinsten Teil frisch untersucht wurden und daß die Flagellaten im gefärbten Präparat, wenn sie nicht sehr häufig sind und man nicht besonders nach ihnen sucht, leicht übersehen werden. Außerdem liegt es in der Art der bei diesen Arbeiten vorgenommenen Experimente, daß die Zahl der zur Milbenfütterung verwandten Eidechsen nur eine beschränkte war.

Die günstigen Lebensbedingungen, die Eutrichomastix im Darme der Milbe findet, weisen uns einen Weg, auf dem die Frage nach der Häufigkeit des Flagellaten im Eidechsenblute gelöst werden könnte. Man müßte zahlreichen Eidechsen je etwa ein Dutzend Weibchen von Liponyssus ansetzen und diese Blutsauger einige Tage später untersuchen. Dieses Vorgehen wäre sicherlich sehr viel weniger mühsam und würde möglicherweise noch günstigere Ergebnisse erzielen, als die von Chatton angewandte Kulturmethode.

Die Möglichkeit der Uebertragung eines Darmflagellaten auf dem Wege durch das Blut und durch blutsaugende Arthropoden bildet ein Gegenstück zu den Fällen, in denen Blutflagellaten durch Vermittlung des Verdauungsorganes übertragen werden. Normalerweise kommt dies bekanntlich bei Trypanosoma lewisi vor; als Ausnahme findet es sich bei den pathogenen Trypanosomen, bei denen eine Infektion, die gewöhnlich durch Insektenstich erfolgt, auch durch das Fressen rohen Fleisches infizierter Tiere möglich ist. Die Flagellaten sind eben nicht derartig an eine ganz bestimmte Uebertragungsweise gebunden, wie die Sporozoen, bei denen der Generationswechsel mit dem Wirtswechsel aufs engste verknüpft ist.

Alle Befunde von Darmflagellaten im Blute der Wirbeltiere beanspruchen deshalb besondere Beachtung, weil sie geeignet sind, auf die Phylogenie der Blutflagellaten, insbesondere auf die Art und Weise, wie der Blutparasitismus entstanden ist, einiges Licht zu werfen. Ueber die Entstehung des Blutparasitismus der Flagellaten besitzen wir die einander entgegengesetzten Theorien von Léger und Minchin [betreffs der Literatur vgl. Laveran und Mesnil (1912) S. 78]. Während Léger die Blutflagellaten von Darmparasiten der blutsaugenden Evertebraten ableitet, nimmt Minchin eine Herkunft aus dem Darme des Wirbeltieres selbst an. Der Umstand, daß die Leptomonaden, die in enger verwandtschaftlicher Beziehung zu Trypanosomen stehen, besonders im Darme der Insekten so häufige Gäste sind, hat wohl allgemein für diese Flagellaten zur Annahme der Légerschen Auffassung geführt, während für die Trypanoplasmen, von denen sich bei den Fischen Vertreter sowohl im Blute als im Darme finden, die Meinung Minchins viel Wahrscheinlichkeit besitzt. Dies ist auch der Standpunkt, den mit einigem Vorbehalt Laveran und Mesnil in ihrem Handbuch vertreten.

Die Beobachtungen M. Légers bei Anatolis können nun aber der Ansicht Minchins auch bezüglich der Trypanosomen eine Stütze bieten, denn die Leptomonas-Art, die im Blute dieser Eidechse offenbar gar nicht selten ist — sie wurde bei 2 von 30 Tieren im Blutausstrich nachgewiesen — wurde in mehr als der Hälfte der darauf untersuchten Tiere auch in der Kloake gefunden. Wenn wir im allgemeinen bei Wirbeltieren Leptomonas-Formen im Darme vermissen, so ist dies kein Einwand gegen Minchins Theorie, sondern könnte ihr geradezu als Stütze dienen: Im Wirbeltiere finden Flagellaten vom Leptomonas-Typ bessere Lebensbedingungen im Blute als in den Verdauungsorganen; sie treten deshalb dort nicht als Darmparasiten, sondern in der durch das Medium bedingten veränderten Gestalt als Trypanosomen im Blute auf.

Das Verhalten von Eutrichomastix lacertae in den blut-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

saugenden Milben zeigt uns, daß auch die Frage nach einem Ueberträger für die zu Blutparasiten gewordenen Leptomonaden keine Schwierigkeiten bieten kann. Vertreter der Gattung Eutrichomastix (oder Trichomonas) sind, soweit mir bekannt, aus Milben bisher nicht beschrieben worden. Viel weniger überraschend als die starke Anpassungsfähigkeit von Eutrichomastix lacertae an das Leben in der Milbe Liponyssus erscheint es daher, wenn zu Blutparasiten gewordene Wirbeltierleptomonaden z. B. in blutsaugenden Insekten günstige Entwicklungsbedingungen antreffen, da ja andere Vertreter der Gattung Leptomonas Insektenparasiten sind.

Offenbar bestehen beide entgegengesetzte Theorien über die Entstehung des Blutparasitismus zu Recht, und beide Wege sind von der Natur beschritten worden. So könnte man vielleicht die harmlosen, ihren Wirten völlig angepaßten Trypanosomen vom Lewisi-Typus, deren Uebertragung, soweit bekannt, noch immer durch Vermittlung des Verdauungsorgans erfolgt, vom Darme des gleichen Wirtes herleiten, während manche pathogene Formen von Leptomonaden der blutsaugenden Insekten stammen könnten. In einer späteren Arbeit werde ich nachweisen, daß auch in der Phylogenie der intracellulären Blutparasiten die beiden angegebenen Wege in Betracht kommen. Während ich früher (1910) für Haemagregarina stepanowi, den Blutschmarotzer der Sumpfschildkröte, die Abstammung von einem Egelcoccidium sehr wahrscheinlich machen konnte, habe ich inzwischen (1919) bei gewissen Blutparasiten von Eidechsen die Herkunft aus dem Darme des gleichen Tieres nachweisen können. Bei diesen Coccidienformen spielt sich die ganze Entwicklung in der Eidechse ab, und die blutsaugenden Milben dienen nur als mechanische Ueberträger, kommen somit als ursprüngliche Wirte gar nicht in Frage.

Die Beobachtungen an Eutrichomastix lacertae haben uns gezeigt, daß hier nur ein kleiner Schritt zu fehlen scheint, um den Flagellaten zum Blutparasiten zu machen. Man könnte sich vorstellen, daß, wenn in einer Generationsfolge dieser Flagellaten zufällig mehrmals hintereinander der Weg durch das Blut und die blutsaugende Milbe zurückgelegt würde, die Parasiten dem Blutaufenthalt derartig angepaßt würden, daß sie auch im normalen Blute nicht nur am Leben bleiben, sondern sich dort vermehren könnten. Ich glaube deshalb, daß wir mit der Möglichkeit rechnen müssen, daß Flagellaten vom Typus der Darmparasiten uns als echte Blutbewohner entgegentreten, und vielleicht ist die Auffassung Gonders und Martoglios in den von ihnen beobachteten Fällen zutreffend. Nachdem sich aber herausgestellt hat, daß Darmflagellaten gar nicht selten in das Blut ihrer Wirte übertreten, kann die Beobachtung eines einzelnen Falles nicht genügen, die im Blute gefundenen Flagellaten als echte Blutparasiten anzusprechen.

Literatur.

Balfour, A., On the occurrence of Herpetomonads (?) in Gerbils. (Parasitol. Vol. 8. 1916. p. 260.)

Chatton, E., a) Présence d'un Flagellé intestinal du genre Trichomastix dans le sang et les organes du Gecko. (Compt. rend. Soc. Biol. T. 81. 1918. p. 343.)

— b) Culture pure et indéfinie d'un Flagellé intestinal du genre Trichomastix. (Compt. rend. Soc. Biol. T. 81. 1918. p. 346.)

— c) La nutrition des Flagellés intestinaux du genre Trichomastix en cultures pures. (Compt. rend. Soc. Biol. T. 81. 1918. p. 775.)

Danilewsky, B., Parasitologie comparée du sang. II. Recherches sur les Hématozoaires des tortues. Kharkoff 1889. p. 82: Observations sur une monade (Hexamitus), parasite du sang.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Doflein, F., Lehrbuch der Protozoenkunde. 4. Aufl. Jena (Gust. Fischer) 1916.

— Studien zur Naturgeschichte der Protozoen. X. Ueber Polytomella agilis. (Zool. Jahrb. Bd. 41. Abt. f. Anat. 1918. S. 1.)

Dutton, J. E., and Todd, J. L., First report of the Trypanosomiasis Expedition to Senegambia. (Liverpool. School. Trop. Med. Mem. XI. 1903. p. 56.)

Fantham, H. B., and Porter, A., On the natural occurrence of Herpetomonads (Leptomonads) in Mice. (Parasitol. Vol. 8. 1915. p. 128.)

Gonder, R., Lamblia sanguinis n. sp. (Arch. f. Protistenk. Bd. 21. 1911. S. 209.)

Hadley, P. B., The part played in the goblet cells in protozoan infections of the intestinal tract. (Journ. med. Res. Vol. 36. 1917. p. 79.)

Herwerden, Van, Ueber das Volutin und seine chemische Zusammensetzung. (Fol. microbiol. Vol. 5. 1917. p. 1.)

Janicki, C., Untersuchungen an parasitischen Flagellaten. T. II. (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 112. 1915. S. 573.)

Knuth, P., Eine Herpetomonas beim Reh. (Zeitschr. f. Infektionskr. d. Haust. Bd. 6. 1909. S. 357.)

Kofoid, Ch. A., u. Swezy, O., Mitosis and multiple fission in Trichomonad Flagellates. (Proc. Amer. Acad. Arts and Sci. Vol. 51. 1915. p. 289.)

Labbé, A., Recherches zoologiques et biologiques sur les parasites endoglubulaires. Arch. zool. exp. Sér. III. T. 2. 1894. p. 227.)

Laveran, A., et Mesnil, F., Trypanosomes et Trypanosomiases. Paris (Masson et Cie.) 1912.

Leger, M., Infection sanguine par Leptomonas chez un saurien. (Compt. rend. Soc. Biol. T. 81. 1918. p. 772.)

Martoglio, F., Su di un nuovo genere di parassiti del sangue. (Ann. d'Ig. Vol. 27. 1917. p- 361.)

Plimmer, H. G., a) On certain blood parasites. (Journ. Roy. Microsc. Soc. 1912. p. 133.)

— b) On the blood-parasites found in animals in the Zoological Gardens during the four years 1908—1911. (Proc. Zool. Soc. London. 1912. p. 106.)

Ponselle, A., Hexamitus intestinalis, parasite habituel de l'intestin des Batraciens, trouvés dans le sang de Rana esculenta. (Compt. rend. Soc. Biol. T. 82. 1919. p. 23.)

Reichenow, E., Untersuchungen an Haematococcus pluvialis, nebst Bemerkungen über andere Flagellaten. (Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamt. Bd. 33. 1909. S. 1.)

— Haemogregarina stepanowi. Die Entwicklungsgeschichte einer Hämogregarine. (Arch. f. Protistenk. Bd. 20. 1910. S. 251.)

— Karyolysus lacertae, ein wirtwechselndes Coccidium der Eidechse Lacerta muralis und der Milbe Liponyssus saurarum. (Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamt. Bd. 45. 1913. S. 317.)

— Digestion intracellular en un ácaro. (Bol. R. Soc. Esp. Hist. Nat. T. 18. 1918. p. 258.)

— Eutrichomastix lacertae en la sangue y en ácaros hematófagos. (Bol. Inst. Nac. Hig. Alfonso XIII. Dez. 1918. p. 183.)

— Der Entwicklungsgang der Hämococcidien Karyolysus und Schellackia nov. gen. (Sitz.-Ber. Ges. Naturf. Freunde Berlin. 1919.)

Sergent, Ed. et Et., Études sur les Hématozoaires d'Oiseaux. (Ann. Inst. Pasteur. T. 21. 1907. p. 270.)

Erklärung der Tafel.

Die Figuren sind mit dem Abbeschen Zeichenapparat gezeichnet bei Vergrößerung mit homogener Oelimmersion Zeiss 2 mm und Okular 12 (Fig. 1 mit Ok. 8). Die Färbung ist in Fig. 6 Eisenhämatoxylin nach Heidenhain, in allen übrigen Delafields Hämatoxylin.

Fig. 1. Epithelverletzung im Mitteldarm eines Psammodromus hispanicus, in deren Tiefe sich Bakterien angesiedelt haben. Ein Flagellat ist aus der Darmhöhle in die Bindegewebsschicht der Mukosa eingedrungen.

Fig. 2—6. Eutrichomastix lacertae aus dem Blut einer Lacerta muralis.

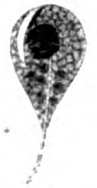
Fig. 7. Lymphozyt des Eidechsenblutes mit zwei aufgenommenen Eutrichomastix.

Fig. 8. Großer pigmentierter Phagozyt des Eidechsenblutes, zahlreiche Eutrichomastix und mehrere Erythrozyten enthaltend.

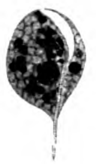
Fig. 9. Großer Phagozyt der Leibeshöhle mit Resten von Flagellaten und Zelltrümmern im Innern.

Fig. 10. Darmepithelzelle der Milbe Liponyssus saurarum, die in einer Vakuole drei Eutrichomastix lacertae enthält.

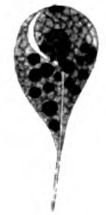
Centralblatt für Bakteriologie Abt. I. Orig. Bd. 84. Reichenow, Eutrichomastix lacertae



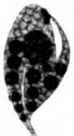
2.



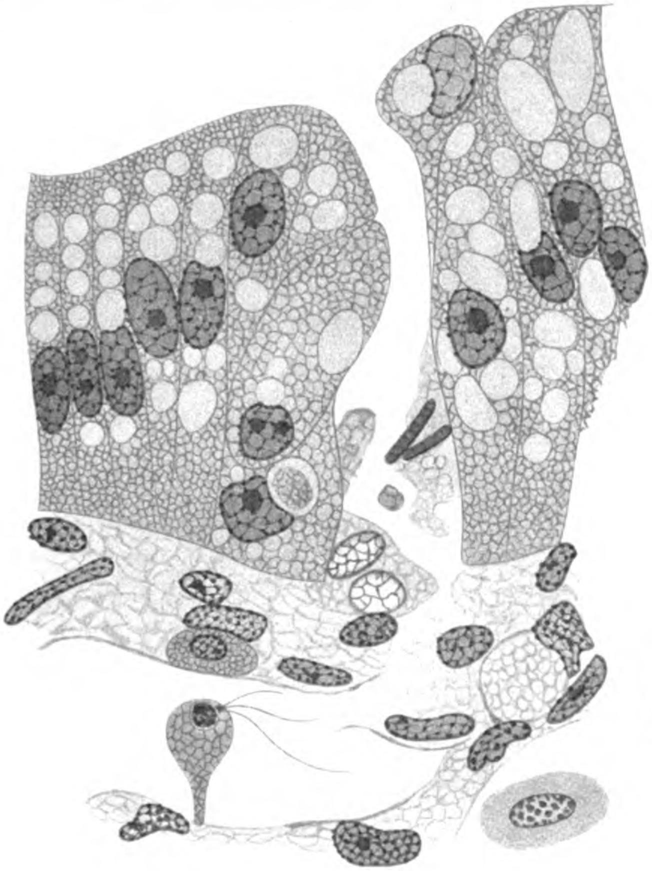
3.



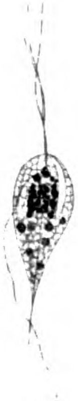
4.



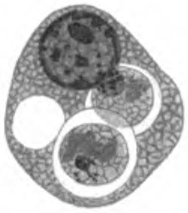
5.



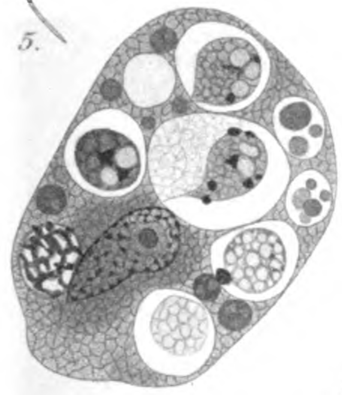
1.



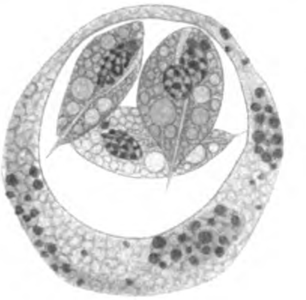
6.



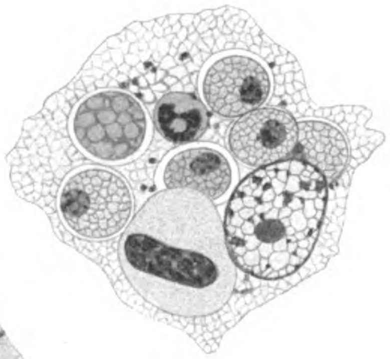
7.



9.



10.



8.

[illegible] gez. [illegible] Gustav Fischer [illegible]

Nachdruck verboten.

Ueber Herstellung und Anwendung von Impfstoffen zur Behandlung bakterieller Krankheiten.

[Aus der inneren Abteilung des Allgemeinen Krankenhauses Lübeck (Prof. Dr. Deycke).]

Von Dr. **Hans Seebohm,** Abteilungsarzt.

Den kranken Körper in seinem Kampfe gegen die eingedrungenen Infektionserreger zu unterstützen, ist Aufgabe und Zweck der Vakzinebehandlung. Aus dieser Benennung geht schon hervor, daß es sich um einen aktiven Immunisierungsprozeß handelt. Es werden dem Körper nicht, wie z. B. bei dem Behringschen Diphtherie- oder beim Tetanusserum, die fertigen Antikörper einverleibt, sondern er wird durch Injektion von Antigenen, d. h. Aufschwemmungen von meist abgetöteten Bakterien oder deren Bestandteilen, selber zu vermehrter Bildung solcher spezifischen Antikörper angeregt. Ganz besonders gilt das für solche Fälle, wo der Körper durch anhaltendes Fieber geschwächt, oder durch andere ungünstige Verhältnisse seiner Konstitution nicht befähigt ist, in normaler Weise Antikörper zu bilden, wie wir dies bei der Tuberkulose so oft beobachten. Gerade bei der Bekämpfung dieser verheerenden Krankheit hat die zuerst von Robert Koch begründete und jetzt weiter ausgebaute Behandlungsart der aktiven Immunisierung gewaltige Erfolge erzielt, zumal seitdem es Deycke und Much gelang, die Bazillenleiber der Tuberkelpilze aufzuschließen, deren einzelne Bestandteile zu isolieren und diese sog. „Partialantigene“ zur Erzeugung der spezifischen Antikörper zu verwenden.

Der Grundgedanke dieser aktiven Immunisierung wurde nun auch auf andere Infektionserreger übertragen. Da bis zur Bildung der Antikörper durch den Körper immer eine gewisse Frist vergehen wird, ist es klar, daß sich hierfür besonders Infektionskrankheiten mit chronischem Verlauf eignen, sowie ferner, daß ein Erfolg bei solchen Kranken nicht mehr zu erwarten ist, die derartig geschwächt sind, daß sie zur Bildung spezifischer Gegengifte nicht mehr fähig sind.

Es soll im folgenden über die Versuche und Erfahrungen berichtet werden, die von April 1913 bis Juli 1919 im Lübecker Allgemeinen Krankenhause mit aktiver Immunisierung Infektionskranker gemacht wurden.

Es kamen dabei in Betracht Erkrankungen an Diphtherie, speziell zur Bekämpfung der Bazillenträger, ferner Infektionen mit Coli-, Typhus-, Paratyphus-, Dysenteriebazillen, Strepto-, Staphylo- und Meningokokken und endlich chronische gonorrhoische Erkrankungen. Die Tuberkulosebehandlung, deren Technik infolge der größeren Krankenzahl schon viel früher ausgearbeitet und vervollkommnet ist, soll hier nicht berücksichtigt werden, sondern nur auf die umfangreiche Literatur über Behandlung mit Partigenen verwiesen werden.

Es lag nahe, analog wie bei der Tuberkulosebehandlung, auch bei den anderen Infektionskrankheiten die in Betracht kommenden Bazillenleiber aufzuschließen, um so die einzelnen, im Bazillus enthaltenen, antigenen Bestandteile zur Wirkung kommen zu lassen. In der Tat wurden denn auch die ersten Versuche bei Diphtherie, Typhus und Paratyphus mit Vakzinen gemacht, die so hergestellt wurden, daß die Bazillen mit schwachen Milchsäurelösungen eine bestimmte Zeit bei 56° aufgeschlossen wurden. Durch Filtrieren erhielt man dann die löslichen Bestandteile im Filtrat (MDiL bzw. MTyL) sowie den Rückstand (MDiR bzw. MTyR). Die mit beiden Stoffen, dem Filtrat und dem Rückstand, angestellten Versuche ergaben, daß die eigentliche immunisierende Wirkung bei der Diphtherie nur dem Filtrat eigen war, und so wurde dieses denn auch anfangs fast ausschließlich benutzt. Diese elektive Wirkung gerade der löslichen Toxine der Diphtheriebazillen auf die Antikörperbildung mag mit der dieser Krankheit eigenen Giftwirkung in Zusammenhang stehen. Hierdurch unterscheidet sie sich wesentlich von anderen Infektionskrankheiten. Denn bei weiteren Versuchen mit Typhus- und Coli-Bazillen, Streptokokken und Staphylokokken stellte sich heraus, daß der Körper auch auf die abgetöteten Bakterienleiber, ohne daß ihre spezifischen Bestandteile durch Aufschließung isoliert wurden, Antikörper zu bilden vermag, im Gegensatz zum Tuberkelbazillus, der, wie wir wissen, von einer schützenden Fettschicht durchsetzt ist und dadurch gegen die Schutzstoffe des Körpers so außerordentlich widerstandsfähig ist. Hierdurch wurde es möglich, diese Vakzinen auf wesentlich einfachere und schnellere Weise herzustellen.

Es sind jetzt zweierlei Arten bei uns in Gebrauch, die gewöhnlichen polyvalenten Vakzinen und die sog. autogenen Schnellvakzinen aus Reinkulturen, die aus infektiösem Material des betreffenden Patienten hergestellt wurden. Denn es ist klar, daß bei der großen Verschiedenheit mancher artgleicher Infektionserreger eine wirklich immunisierende Kraft nur den entsprechenden spezifischen Antigenen desselben Bakterienstammes zukommt. Zu dem Zwecke werden aus dem Infektionsmaterial des Erkrankten auf Agarplatten Reinkulturen angelegt, dieselben mit der üblichen Karbolkochsalzlösung verrieben und die so entstandene Emulsion durch einen dünnen Wattebausch filtriert, um Beimengungen von Agarstückchen oder sonstigen korpuskulären Bröckeln zu entfernen. Die filtrierte Emulsion wird 24 Std. bei gewöhnlicher Temperatur stehen gelassen, wonach die Bazillen sicher abgetötet sind, und zwar lediglich durch den Karbolgehalt, also ohne die sonst meist übliche Einwirkung höherer Hitzegrade. Dann wird die gleichmäßig getrübte Aufschwemmung mit einer Standardlösung auf ihren Trübungsgrad verglichen; als solche benutzen wir die zu den Typhusimpfungen allgemein gebräuchliche Typhusbazillenemulsion, bei der durch Auszählen ein Gehalt von 162 Millionen Keimen in 1 ccm gefunden wird. Soweit erforderlich, wird das Filtrat mit Karbolkochsalzlösung noch weiter verdünnt, so daß es annähernd die gleiche Bakterienzahl wie die Standardlösung enthält. Diese Emulsion wird als Stammlösung bezeichnet, von der man zum Gebrauch Verdünnungen bis 1:100000 herstellt, so daß in 0,1 ccm dieser Lösung, der Anfangsdosis, annähernd 162 Keime enthalten sind. Die Dauer der Herstellung dieser „Schnellvakzinen“ beträgt nur 48 Std., ist also außerordentlich kurz, was natürlich für die praktischen Zwecke der Behandlung besonders wertvoll ist. Aber die Methode ist auch denkbar einfach und leicht zu handhaben. Vor allem fällt die immerhin unbequeme Auszählung der Keime weg. Sie wird eben ersetzt durch die Einstellung der Stammemulsion auf einen bestimmten Trübungsgrad.

Das Auge vermag, wie wir uns überzeugt haben, auf diese einfache Art die Konzentration einer Aufschwemmung mit genügender Schärfe, ja mit großer Genauigkeit, festzustellen. Das haben uns Kontrollversuche gelehrt, bei denen der Trockenrückstand solcher Emulsionen nach allen Regeln der Wissenschaft durch die chemische Wage bestimmt wurde. Nicht minder eindeutig hat uns aber jahrelang praktische Erfahrung bewiesen, daß die von uns gewählte Vergleichsprüfung sicher und zuverlässig arbeitet.

Ein anderes Verfahren, wie wir es zur Herstellung von Diphtherievakzine jetzt anwenden, ist folgendes: Von einer Diphtheriereinkultur wird ein Kolben mit Bouillonnährlösung geimpft und 14 Tage bei 37° im Brutofen gelassen. Nach Ablauf dieser Zeit wird der nunmehr üppig entwickelten Bouillonkultur 0,5 Proz. Milchsäure zugesetzt und der Kolben dann noch 3 Wochen bei 56—58° gehalten, wodurch die Bazillenleiber völlig ausgelaugt werden. Diese MDi-Lösung wird abfiltriert und das Filtrat (MDiLB) durch Zusatz von 0,5 Proz. Karbolsäure haltbar gemacht. Das ist die Stammlösung („DiLB"), von der zum Gebrauche Verdünnungen nach dem Dezimalsystem herab bis 1 : 10 000 hergestellt werden; der Rückstand, der die Bazillenleiber enthält, wird nicht verwandt.

Nach vielen Versuchen, die optimale Dosierung zu ermitteln, hat sich, analog der Partigenbehandlung der Tuberkulose, als das beste Verfahren das der täglichen Einspritzungen bewährt, die mit sehr niedrigen, unter der Reizschwelle gelegenen Verdünnungen beginnen und jeden Tag um die Hälfte der Menge des vorherigen Tages steigen. Nur durch dieses langsame Hinauftasten gelingt es, die für den betreffenden Organismus in dem jeweiligen Stadium optimale Dosis zu finden, bei der auch, wie wir wissen, die kräftigste Bildung und Vermehrung der Antikörper einsetzt. Die ganze Reihe dieser täglichen Injektionen ist eigentlich als eine einzige Injektion aufzufassen, die die gesuchte optimale, d. h. die Enddosis, darstellt.

Erfahrungsgemäß haben sich als Anfangsdosen Verdünnungen von 1 : 10 000 bis 1 : 100 000 am besten bewährt; dadurch war es fast stets möglich, sowohl lokale Herd- wie allgemeine Reaktionen zu vermeiden. Wo solche doch bei anscheinend überempfindlichen Patienten auftraten, wurde die Vakzinebehandlung unterbrochen, und nach Abklingen dieser zwar niemals schwereren Reaktionserscheinungen mit einer noch stärkeren Verdünnung von 1 : 1 Million erneut begonnen, wobei es dann fast stets gelang, ziemlich hohe Dosen ohne irgendwelche schwerere Reaktionen zu erreichen. Das Erreichen der Enddosis machte sich durch eine lokale Reaktion an der letzten Injektionsstelle, wie Rötung der Einstichwunde und mäßiges schmerzhaftes Oedem in deren Umgebung, sowie in gelegentlich auftretender Temperaturerhöhung um $^1/_2$—1° bemerkbar; beides verschwand in 1—3 Tagen nach Aufhören der Kur. Angewandt wurde nur die intramuskuläre Injektion. In manchen Fällen war eine oder mehrere Wiederholungen der Vakzinekuren mit gewöhnlich 1- bis 2-wöchiger Pause erforderlich.

Die Behandlung der Diphtherie mit Vakzine bezweckte, die Bazillenträger von ihren Keimen zu befreien, während zur Bekämpfung der akuten Diphtherie durchweg das Behringsche Serum injiziert wurde.

In der Zeit vom 1. Mai 1913—1. Juli 1919 kamen 563 Diphtheriefälle zur Behandlung, davon wurden 336 spezifisch mit Vakzine, 227 Fälle

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

nicht spezifisch behandelt; bei letzteren handelte es sich um leichtere Fälle, sowie um solche, die größtenteils von selbst nach 1—2 Wochen bazillenfrei wurden; immerhin wurden von diesen innerhalb von 2 Wochen nur 31 Proz., innerhalb von 3 Wochen 37 Proz. bazillenfrei entlassen.

Im allgemeinen wurde, wenn im Laufe der 2. Krankheitswoche noch Bazillen vorhanden waren, mit der spezifischen Therapie begonnen. Benutzt wurden verschieden hergestellte Vakzinearten, sowohl Schnellvakzinen, als auch solche, die durch Milchsäureaufschließung hergestellt waren. Mit letzteren, die dem oben geschilderten Präparat DiLB entsprachen, wurden dabei die günstigsten Resultate erzielt. Von den 336 spezifisch behandelten Fällen wurden 314 (= 93,5 Proz.) bazillenfrei, 22 mit Bazillen entlassen; von diesen letzteren wäre eine größere Anzahl wahrscheinlich bei längerer Behandlung aber ebenfalls bazillenfrei geworden, wenn die Behandlung nicht vorzeitig unterbrochen wäre, da die Kranken auf eigenen dringenden Wunsch entlassen werden mußten, über die Hälfte z. B. vor Ablauf der 2. Woche nach Beginn der spezifischen Behandlung. Die 314 mit Erfolg behandelten Bazillenträger wurden als geheilt und bazillenfrei entlassen, und zwar

53 Fälle innerhalb der 1. Woche nach Beginn der spezifischen Therapie
115 „ „ „ 2. „ „ „ „ „ „
75 „ „ „ 3. „ „ „ „ „ „
38 „ „ „ 4. „ „ „ „ „ „
10 „ „ „ 5. „ „ „ „ „ „
8 „ „ „ 6. „ „ „ „ „ „
7 „ „ „ 7. „ „ „ „ „ „
3 „ „ „ 8. „ „ „ „ „ „
2 „ „ „ 9. „ „ „ „ „ „
je 1 Fall „ „ 10., 11. u. 12. Woche nach Beginn der spezifischen Therapie.

Es waren also

nach 2 Wochen 53,5 Proz. der spezifisch Behandelten bazillenfrei,
„ 3 „ 77,7 „ „ „ „ „
„ 4 „ 89,5 „ „ „ „ „

Eine große Anzahl chemischer Präparate ist beschrieben worden, denen mehr oder minder große Erfolge bei der Bekämpfung der Diphtheriebazillenträger nachgerühmt werden; aber keines von ihnen hat sich auf die Dauer bewährt und allgemeine Anerkennung gefunden. Pinselungen mit Jodtinktur und Argentum nitricum, Gurgelungen mit Wasserstoffsuperoxyd, Natrium sozojodolicum, Natrium perboricum, Einblasen von Joddämpfen, bei denen das Jod in statu nascendi wirken soll, Pyocyanase sowie neuerdings Providoform und Eucupin mögen daher hier nur kurz erwähnt werden.

Bei Coli-Infektionen wurde vorwiegend mit Schnellvakzinen gearbeitet, die aus dem eigenen Infektionsmaterial des Kranken hergestellt wurden. Bei der Verschiedenheit der einzelnen Coli-Stämme verspricht diese Art von Vakzine einen weit größeren Erfolg als die gewöhnlichen polyvalenten Impfstoffe. Es wurden 60 Fälle wegen Coli-Infektionen der Harnwege, Cystitis, Pyelocystitis und -nephritis mit guten Erfolgen behandelt. Davon verließen 5 vor Abschluß der ersten Behandlungskur das Krankenhaus. Der Zustand derselben hatte sich aber trotz der meist verhältnismäßig kurzen Zeit bereits wesentlich gebessert. Bei 27 Fällen verschwanden die Coli-Bazillen im Urin dauernd, und zwar

nach 5—18 Tagen bei 10 Fällen
„ 25—30 „ „ 7 „
„ 35—45 „ „ 5 „
nach 54, 56, 62, 71 und 87 „ „ 5 „

Gleichzeitig trat völlige Heilung der vorher bestehenden Beschwerden und Entzündungserscheinungen auf. Bei 17 dieser Fälle genügte 1 Kur, bei 7 Fällen waren 2, bei 1 Fall 3 und bei 2 besonders hartnäckigen Fällen 4 Kuren von durchschnittlich 2—3-wöchiger Dauer notwendig. Die übrigen 28 Fälle wurden als gebessert und arbeitsfähig entlassen, wenn auch bei der Entlassung noch Coli-Bazillen im Urin nachgewiesen wurden. Doch war auch bei allen diesen eine wesentliche Besserung sowohl des Allgemeinzustandes und der Beschwerden, als auch des Urinbefundes zu beobachten. Die bei vielen Fällen anfangs vorhandenen, oft unregelmäßigen Temperatursteigerungen sanken zur Norm ab; die zystitischen Reizerscheinungen gingen zurück, mit einer gleichzeitigen Abnahme des Gehalts an Leukozyten und Epithelien und einer wesentlichen Verminderung des Bazillenbefundes. Vielleicht wären die letzteren bei einer weiteren Fortsetzung der Behandlung in einer größeren Zahl der Fälle ebenfalls geschwunden. Denn bei der Hälfte der Fälle (14) wurde nur 1 Kur durchgemacht, bei 7 Fällen wurden 2 Kuren, bei 5 Fällen 3 Kuren und bei 2 Fällen 4 Kuren durchgemacht. Da die Pat. sich aber völlig beschwerdefrei fühlten, drängten sie auf Entlassung.

In der Literatur sind die Veröffentlichungen über Coli-Vakzinebehandlung noch sehr selten, und doch bietet dieser Behandlungsweg bei den hartnäckigen und oft jeder anderen Therapie trotzenden Coli-Infektionen der Harnwege große Aussichten auf Erfolg.

Zur Behandlung des Typhus abdominalis wurden sowohl Aufschließungen von Typhusbazillen mit Milchsäure als auch Schnellvakzinen benutzt. Es wurden im ganzen 61 Fälle spezifisch behandelt; von diesen starben 8 Pat. (13,1 Proz.). Ein sichtbarer Dauererfolg der Vakzinebehandlung war bei 26 Fällen mit Typhuserkrankung meist leichterer Natur zu beobachten (42,6 Proz.), ohne Erfolg blieben 20 Fälle (32,7 Proz.).

Bei den 26 mit Erfolg behandelten Fällen sank die Temperatur ab

nach 1—3 Injektionen in 8 Fällen,
„ 5—6 „ „ 5 „
„ 8—10 „ „ 6 „
„ 11—13 „ „ 7 „

Ein Rezidiv oder andere Komplikationen traten nicht ein.

Bei 7 anderen Fällen war ein anfänglicher Erfolg zu beobachten, indem nach durchschnittlich 6 Tagen die Temperatur absank; jedoch trat nach einem fieberfreien Intervall von 4—14 Tagen ein Rezidiv ein; vielleicht war bei diesen Fällen die Vakzinebehandlung zu früh abgebrochen worden; nach erneut einsetzender spezifischer Behandlung sank auch bei diesen die Temperatur in kurzem wieder ab.

Eine wesentliche Beeinflussung der Typhuserkrankungen, wenigstens der schwereren Fälle, konnten wir demnach nicht erzielen und haben die Vakzinebehandlung des echten Typhus deshalb jetzt einstweilen wieder aufgegeben, zumal sie uns keineswegs ganz unschädlich zu sein scheint. Erfahrungsgemäß ist bei den schweren Erkrankungen der Organismus stets sehr geschwächt und mit Giftstoffen überladen; deshalb wirkt eine weitere Zufuhr von Antigenen, die der Körper doch nicht zu nützlicher Antikörperbildung zu verarbeiten vermag, eher schädlich durch Antigenüberlastung, als nützlich, wie wir dies ja ebenfalls bei den desperaten Tuberkulosefällen beobachten. Und da wir fast durchweg schwere Typhusfälle zur Behandlung hatten, erklärt sich der geringe Erfolg der Vakzinebehandlung und die verhältnismäßig hohe Mortalitätsziffer von 13,1 Proz. Bei leichteren Fällen kann man immerhin einen Versuch mit Vakzine wagen, ebenso bei Paratyphusfällen, bei denen auch wir bessere Erfolge beobachteten; allerdings ist die Zahl der behandelten Fälle noch relativ klein. Es wurden 14 Paratyphuskranke mit spezifischer Vakzine behandelt, und zwar wurde fast ausschließlich die Schnellvakzine benutzt. Von den 14 Fällen kam 1 ad exitum, der aber schon mit schweren Allgemeinerscheinungen aufgenommen wurde; bei 2 Fällen trat ein Rezidiv ein; von den übrigen Fällen trat die Entfieberung ein

3—6	Tage	nach	Beginn	der	spezifischen	Behandlung	bei	4 Fällen
11—15	„	„	„	„	„	„	„	4 „
20—30	„	„	„	„	„	„	„	3 „

Es war also bei 57,1 Proz. der Fälle innerhalb 2 Wochen Entfieberung eingetreten.

Die Zahl der spezifisch behandelten Dysenteriefälle ist ziemlich klein: 9 Fälle; bei allen diesen trat Heilung ein, und zwar

nach	3—6	Injektionen	bei	2 Fällen
„	7—14	„	„	3 „
„	15—18	„	„	2 „
„	20—24	„	„	2 „

Die bakteriolog. Untersuchung hatte in 7 Fällen den Flexnerschen, in 1 Fall den Shiga-Kruseschen Bazillus ergeben, in 1 Fall lag Mischinfektion vor. Benutzt wurden autogene und polyvalente Vakzinen.

Ein größeres Material hatten wir bei Behandlung mit Streptokokkenvakzinen. Es wurden nur Schnellvakzinen angewandt, und zwar, soweit möglich, autogene, besonders bei Bakteriämien durch Züchtung von Kulturen aus der Blutaussaat. Es wurden 40 Fälle behandelt, und zwar wegen Erysipel 33 Fälle und wegen Sepsis 7 Fälle. Die Erfolge der wegen Erysipel behandelten 33 Fälle waren folgende:

Temperaturabfall ohne Rezidiv				
nach	1—4	Injektionen	bei	14 Fällen
„	5—6	„	„	10 „
„	8—15	„	„	5 „
Auftreten eines Rezidivs			„	2 „
gestorben				2 Fälle

Wegen Sepsis wurden 7 Fälle behandelt; bei einem Teil derselben wurden aus dem Blut, bei anderen aus dem Pleurapunktat Streptokokken gezüchtet. Bei einigen Fällen bestanden septische Polyarthritiden, Endo- und Myokarditiden, Pleuritiden. Temperaturabfall und Heilung trat ein nach 4—16 Injektionen; nur 1 Fall von Sepsis im Anschluß an Erysipel starb.

Wegen Staphylokokkeninfektionen wurden 11 Fälle mit Schnellvakzinen, ebenfalls größtenteils autogenen Charakters, behandelt. Von diesen kam 1 Fall von Staphylokokkensepsis im Anschluß an Grippe ad exitum. Ein Fall wurde wegen Furunkulose mit 18 Injektionen behandelt; die vorher sehr chronischen Furunkel bildeten sich während dieser 3-wöchigen Kur zurück, neue traten nicht wieder auf; ein anderer Patient wurde wegen Kopfekzem mit 24 Vakzineinjektionen behandelt, wobei das Ekzem allmählich abheilte. Die übrigen Fälle wurden wegen Cystitis und Pyelocystitis infolge Staphylokokkeninfektion behandelt. Der Erfolg war dabei der, daß 5 Fälle geheilt entlassen wurden; im Urin ließen sich keine Kokken durch bakteriolog. Untersuchungen mehr finden; 1 Fall wurde wesentlich gebessert entlassen; bei 2 Fällen blieb die Behandlung ohne Erfolg.

Erwähnung finden mögen auch 2 Fälle, die mit Meningokokkenvakzinen behandelt wurden; bei dem einen handelte es sich um eine septische Kniegelenksentzündung; es wurden 2 Kuren mit 17 und 19 Injektionen gemacht; die Temperatur sank ab und es trat Heilung ein, allerdings unter Ankylosebildung des Kniegelenks. Der 2. Fall war eine akute, eitrige Tendovaginititis, bei der Rückbildung und Heilung nach 12 Injektionen zu beobachten war. Bei beiden wurden Meningokokken bakteriologisch nachgewiesen und zur Herstellung der Schnellvakzinen benutzt.

Zur Behandlung von chronischen gonorrhoischen Erkrankungen wird seit 6 Jahren mit besten Erfolgen das Gonargin benutzt, das ja auch eine Vakzine, nämlich eine Aufschwemmung von Gonokokken in Karbolkochsalzlösung, darstellt. Es wurde hauptsächlich bei gonorrhoischen Gelenkerkrankungen, ferner bei Adnexerkrankungen sowie bei Zystitiden und Pyelozystitiden auf gonorrhoischer Grundlage verwandt. Besonders bei den sonst so außerordentlich hartnäckigen Arthritiden, die meist eine völlige Versteifung des Gelenkes verursachten, gelang es in relativ kurzer Zeit (in durchschnittlich 2 Monaten) Heilung ohne Ankylose zu erzielen; auch bei den erwähnten Erkrankungen der Adnexe und der Harnwege brachte die Vakzinebehandlung eine wesentlich schnellere Heilung bzw. Besserung der Beschwerden zustande.

Auch hierbei wurde in der üblichen Weise täglich gespritzt, und zwar intramuskulär; wir begannen mit stark verdünnten Lösungen, im allgemeinen mit 10000 Keimen, und stiegen gewöhnlich bis zu 50 oder 100 Millionen Keimen an. Die Dauer einer solchen Kur beträgt 4 Wochen; nach einer 14-täg. Pause wurde die Kur erneut begonnen, so daß die ganze Behandlungsdauer durchschnittlich 10 Wochen in Anspruch nimmt; eine dritte Kur war nur ausnahmsweise bei besonders hartnäckigen Fällen notwendig.

Die Vakzinebehandlung bei den gonorrhoischen Komplikationen hat sich jetzt wohl überall Anerkennung verschafft, und über ihre guten Erfolge sind sich alle Autoren einig; in der Literatur ist denn auch in den letzten Jahren eine große Menge diesbezüglicher Veröffentlichungen erschienen, besonders über das Gonargin und das Arthigon, auf die ich an dieser Stelle nur hingewiesen haben will.

Als es uns bei einem Fall von Gonorrhoe geglückt war, Gonokokken kulturell zu züchten, wurden hiervon auch nach unserer Methode Schnellvakzinen hergestellt und damit Versuche angestellt. Es wurden 11 Fälle hiermit behandelt, und zwar 3 wegen gonorrhoischer Arthritiden; 1 Kniegelenkempyem wurde nach 3 Wochen geheilt, 2 andere nach je 2 Injektionskuren beschwerdefrei entlassen. Wegen Zervikal- und Adnexerkrankungen gonorrhoischer Natur wurden 8 Fälle behandelt, von denen 5 beschwerdefrei und 3 wesentlich gebessert das Krankenhaus verließen.

Die Versuche, den Körper mit Vakzinebehandlung aktiv zu immunisieren, sind noch nicht abgeschlossen, und die bei den einzelnen Krankheiten noch verhältnismäßig kleinen Zahlen der Behandelten ermöglichen noch kein definitives Urteil über die Erfolge. Aber so viel steht doch schon fest, daß die Vakzinetherapie eine nicht zu unterschätzende Unterstützung unseres therapeutischen Handelns bildet. Deshalb möge diese Zusammenstellung zur weiteren Verbreitung und Anregung sowie zu neuen Versuchen zur Erforschung und Ausbildung der Vakzinetherapie beitragen.

Nachdruck verboten.

Ueber einige neuere Desinfektionsmittel. II.

[Aus dem Medizinalamt der Stadt Berlin (Bakteriologische Abteilung).]

Von Dr. **Fritz Ditthorn.**

Der während des Krieges eingetretene Mangel an Fett und Seife wird voraussichtlich auch für die nächste Zeit noch anhalten, so daß das Bestreben der Industrie erklärlich ist, für die Kresolseifenlösung Ersatzpräparate zu schaffen. In einer früheren Veröffentlichung dieser Zeitschrift[1]) habe ich bereits eine Reihe solcher Ersatzprodukte auf ihre Eignung zur Seuchenbekämpfung geprüft, und lasse hier das Prüfungsergebnis von weiteren im Handel erhältlichen neueren Präparaten (Tetosol, Caral A, B, C, Cresilol, Parol, Optiform und Kentausan) folgen.

Die Nachprüfungen der für Desinfektionszwecke von den verschiedenen Firmen und Fabriken hergestellten Präparate ist unbedingt nötig, da die Angaben der Fabriken nicht selten einer wissenschaftlichen Nachprüfung nicht standhalten und oft genug nur auf Verhältnisse eingestellt sind, die denen der Praxis nicht entsprechen.

Das Tetosol, Cresilol und Caral A sind reine Kresolpräparate, die in ihrem Kresolgehalt etwa der Kresolseifenlösung entsprechen. Parol und Caral B sind Chlorkresole, Optiform und Caral C sind Formalinseifenpräparate wie das Lysoform, und Kentausan ist ein Kresol-Formaldehydpräparat, das die beiden als Desinfizientien wirkenden Körper in Form einer komplexen Verbindung (Harz) enthält, die beim Auftragen auf die Haut Formaldehyd und Kresol abspaltet. Das Nähere ist bei den einzelnen Präparaten selbst ausführlich gesagt.

Erwähnt sei noch die Prüfungsart der Präparate. Die Prüfung erfolgte sowohl in wässerigen und eiweißhaltigen Aufschwemmungen, wie mit Seidenläppchen, an denen das Bakterienmaterial angetrocknet worden war. Die Suspensionen wurden aus annähernd 18-stündigen, dicht bewachsenen Schrägagarkulturen mit 3 ccm Kochsalzlösung hergestellt, durch Glaswolle filtriert und mit den entsprechend konzentrierten Lösungen der Präparate bestimmte Zeiten in innige Berührung gebracht. Die Impfung auf Nährböden (Agar und Bouillon) erfolgte mittels einer großen Platinöse; die Bebrütung und Beobachtung bei 37° C wurde auf 7 Tage ausgedehnt. Kontrollen der nicht vorbehandelten Bakterien wurden bei jedem Versuche angesetzt, ebenso im allgemeinen ein Parallelversuch mit einem Desinfektionsmittel von bekannter Wirkungskraft, die Ausführung erfolgte bei Zimmertemperatur.

---

[1]) Ditthorn, Vergleichende Untersuchungen neuerer Ersatzpräparate für Kresolseifenlösung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 82. 1918. S. 477.)

Neben den sonst üblichen Nährböden, Schrägagar, Bouillon und Loeffler-Serum (für Diphtheriebazillen) wurden diesmal bei allen Präparaten und Versuchen die optimalen Nährböden nach Süpfle und Dengler[1]) für Coli, Diphtheriebazillen und Staphylokokken verwendet. Es hat sich bei den zahlreichen Versuchen gezeigt, daß diese optimalen Nährböden in den meisten Fällen den gewöhnlichen Nährböden überlegen waren. Die Resistenz der durch die verschiedenen Desinfektionsmittel beeinflußten Bakterien war unter den günstigeren Bedingungen dieser als besonders geeignet erprobten Nährböden um das 3—4-fache höher, als dies bei alleiniger Verwendung des gewöhnlichen Agars und der Bouillon sonst den Anschein gehabt hätte. Jedenfalls sollte nach diesen Erfahrungen die Prüfung von neuen Desinfektionsmitteln nicht mehr ohne Anwendung dieser optimalen Nährböden erfolgen, da bei Verwendung der gewöhnlichen Nährmedien Resultate erhalten werden, die der wirklichen Resistenz der Bakterien nicht voll entsprechen. Auch eine Nachprüfung der bisher bekannten Desinfektionsmittel mittels der Nachkultur unter optimalen Bedingungen dürfte empfehlenswert erscheinen.

1) **Tetosol** der Firma Julius Thiecke, Berlin-Weißensee. Das Präparat stellt eine dunkelbraune, kresolartige Flüssigkeit dar, die nach Angabe der Fabrik 65 Proz. Kresol enthält und nach unseren Versuchen bis zu 4 Proz. noch praktisch klare Lösungen mit Leitungswasser gibt; 5-proz. und höher konzentrierte Lösungen erscheinen getrübt. Die Löslichkeit des Tetosols in Wasser ist nicht gut; stellt man eine 3-proz. Lösung her, so genügt das Vermischen des Tetosols mit 97 ccm Wasser in einem Zylinder mittels der Pipette nicht. Die zahlreichen öligen Tröpfchen kommen erst durch sehr kräftiges Schütteln des verschlossenen Zylinders zur Auflösung. Doch schon nach wenigen Minuten finden bei den 3- und 4-proz. Lösungen an der Oberfläche der Flüssigkeit Ausscheidungen einer öligen, dunklen Schicht statt, die sich ringförmig am Rande des Zylinders festsetzt. Bei den 5- und 6-proz. Lösungen sind die Oberflächenausscheidungen so erheblich, daß sie bald in langen Streifen an den Wandungen des Glases herunterlaufen, auch setzen sich an den verschiedenen Stellen des Glases derartige Ausscheidungen an. Die Reaktion der Lösungen ist ausgesprochen alkalisch.

Zur Bestimmung der keimtötenden Kraft des Präparates wurden zuerst 1-proz. Lösungen mit wässerigen Aufschwemmungen von Coli-, Diphtherie-, Pyocyaneus-Bazillen und Staphylokokken geprüft. Hierbei ergab sich, daß Coli-, Diphtherie- und Pyocyaneus-Bazillen nach 5 Min., Staphylokokken nach 30 Min. abgetötet wurden. 2-proz. Tetosollösungen töteten die Bakterien schon nach 1 Min. ab.

Wurden die Bakterienaufschwemmungen mit Ascitesflüssigkeit hergestellt, so machten sich einige Schwankungen bezüglich der keimtötenden Kraft bemerkbar. Wesentliche Aenderungen der Desinfektionskraft wurden jedoch hierdurch nicht bedingt.

Bei schwierigeren Versuchsbedingungen, Antrocknung der Bakterien durch eiweißhaltige Flüssigkeit (Ascites) an Seidenläppchen, war mit 1-proz. Tetosol eine bedeutende Abschwächung der Wirkung des Präparates festzustellen. Diphtheriebazillen wurden erst nach 10 Min., Pyocyaneus-Bazillen nach 15 Min. abgetötet; Coli-Bazillen und Staphylokokken blieben auch bei 30 Min. langer Einwirkung lebensfähig. 2-proz. Tetosollösungen töteten die 4 Bakterienarten schon nach 1 Min. ab.

---

[1]) Süpfle u. Dengler, Die Bedeutung optimaler Nährböden zur Nachkultur bei der Prüfung von Desinfektionsverfahren. (Arch. f. Hyg. Bd. 85. 1916. S. 189.)

Die Versuche haben somit ergeben, daß das Tetosol ebenso wie die Kresolseifenlösung bereits in niedrigeren Konzentrationen als den vorgeschriebenen **eine gute keimtötende Kraft** besitzt. Die Ergebnisse der Versuche sind in folgender Tabelle zusammengestellt:

Tabelle I[1]. 1 proz. Tetosol.

Bakterienarten	Bakterien in Wasser aufgeschwemmt					Bakterien in Ascites aufgeschwemmt					Bakterien mit Ascites an Seidenläppchen angetrocknet				
	1′	5′	10′	15′	30′	1′	5′	10′	15′	30′	1′	5′	10′	15′	30′
Coli-Bazillen	+	—	—	—	—	+	+	—	—	—	+	+	+	+	+
Diphtheriebazillen	+	—	—	—	—	+	—	—	—	—	+	+	—	—	—
Pyocyaneus-Bazillen	+	—	—	—	—	+	—	—	—	—	+	+	+	—	—
Staphylokokken	+	+	+	+	—	+	+	—	—	—	+	+	+	+	+

Die Kontrollen zeigten üppiges Wachstum.

Aehnliche Resultate mit Tetosol hat bereits Piorkowski[2] erzielt, wenngleich seine Methode, zu 10 ccm der zu prüfenden Tetosolverdünnung eine Platinöse der Kultur zuzusetzen, zur Prüfung des Desinfektionswertes eines neuen Präparates nicht sehr geeignet erscheint. Die Menge von Keimen, die bei dieser Versuchsanordnung von der Verdünnung des Desinfiziens abzutöten ist, ist im Vergleich zu den Bakterienmengen, die an die Desinfektionsmittel in der Praxis gestellt werden, viel zu gering. Das Ergebnis einer solchen Prüfung erlaubt keinen Schluß über den Wert eines Mittels bei stärkeren Anforderungen. Auch scheinen bei den Prüfungen Piorkowskis die optimalen Nährböden von Süpfle und Dengler nicht in Anwendung gekommen zu sein. Dieselben haben bei den Tetosolprüfungen, besonders für Diphtheriebazillen und Staphylokokken, erst die wahren Werte ergeben.

2) **Cresilol** von der Firma I. D. Riedel, Berlin-Britz, ist nach Auskunft der Firma ein 50-proz. Kresolpräparat, das zur Lösung des Cresols 10—12 Proz. Aetzalkali enthält. Es handelt sich also um eine Alkaliverbindung des Kresols. Die Löslichkeit des Präparates ist ebenso schlecht wie bei dem Kresotinkresol. Bei 2—5-proz. Konzentrationen scheidet sich an der Oberfläche eine dunkle Masse ab, die als Ring an der Glaswandung haften bleibt; bei den 4- und 5-proz. Lösungen bildet sich auch ein Bodensatz. Bei der 1-proz. Lösung ist die Ausscheidung an der Oberfläche in geringerem Maße vorhanden.

Tabelle II.

Bakterienarten	Cresilol				Kresolseifenlösung			
	wässerige Abschwemmung			Ascitesläppchen	wässerige Abschwemmung			Ascitesläppchen
	0,75 Proz.	1,0 Proz.	5,0 Proz.	5,0 Proz.	0,75 Proz.	1,0 Proz.	5,0 Proz.	5,0 Proz.
Coli-Bazillen	+ 30′	— 5′	— 1′	— 1′	— 10′	— 1′	— 1′	— 1′
Diphtheriebazillen	+ 30′	+ 30′	— 1′	— 1′	— 10′	— 1′	— 1′	— 1′
Pyocyaneus-Baz.	— 30′	— 5′	— 1′	— 1′	— 5′	— 1′	— 1′	— 1′
Staphylokokken	+ 30′	+ 30′	— 1′	— 1′	— 15′	— 5′	— 1′	— 1′

---

[1] Zeichenerklärung: + = Wachstum; — = Abtötung.

[2] Piorkowski, „Tetosol“. (Ein wasserlösliches Kresolpräparat.) (Berlin. klin. Wochenschr. 1918. S. 881.)

Die Prüfung des Präparates wurde mit wässerigen Bakterienaufschwemmungen und Seidenläppchen unter Verwendung der optimalen Nährböden ausgeführt.

Bei wässerigen Bakterienaufschwemmungen wirkt das Cresilol in 0,75- und 1,0-proz. Konzentration bedeutend schwächer als die gleichstarke Kresolseifenlösung. In 5-proz. Lösung ist seine abtötende Wirkung der ebenso starken Kresolseifenlösung auch unter erschwerten Bedingungen gleichwertig. Das Präparat muß in der Praxis in 5-proz. Konzentration angewendet werden; seine Lösungen reagieren ausgesprochen alkalisch.

3) **Caral,** Kresolseifenlösung der Firma Dr. Kantorowicz, G. m. b. H., Berlin-Weißensee, wird in 2 Präparaten in den Handel gebracht. Das Präparat A enthält 50 Proz. reines Kresol in neutraler oder schwach alkalischer Lösung, während das Präparat B eine Chlorkresolseifenlösung mit 12 Proz. Chlorkresol darstellt.

Ein 3. Produkt, Caral C, ist eine Formalinseifenlösung mit einem Gehalt von ca. 40 Proz. 30-proz. Formaldehyds.

Die Lösung des Kresols in Wasser wird bei den Caralprodukten A und B laut Mitteilung der Gesellschaft nach einem zum Patent angemeldeten Verfahren durch Zusatz einer neutralen seifenähnlichen Lösung erzielt, die als Nebenprodukt gewonnen wird. Auch in der Formalinseifenlösung, Produkt C, ist letzteres als Seifengrundlage enthalten.

Die Prüfung dieses Zusatzes, der die Seifengrundlage der 3 Präparate bildet, ergab, daß ihm allein schon eine gewisse keimtötende Wirkung zukommt; so wurden von der 5-proz. Lösung Diphtheriebazillen nach 5 Min., Coli-Bazillen von 15-proz. und Pyocyaneus-Bazillen von 20-proz. Lösung nach 10 Min. zum Absterben gebracht. Die resistenteren Staphylokokken büßten ihre Lebensfähigkeit erst bei Einwirkung von 30-proz. Lösung nach 30 Min. ein.

Vielleicht gibt die Feststellung der keimtötenden Kraft der Seifengrundlage für sich allein einen Hinweis auf die Ursache der mehrmals zutage getretenen Ueberlegenheit der Caralprodukte der Kresolseifenlösung gegenüber.

3a) Versuche mit dem Präparat **Caral A.** Das Präparat stellt eine dunkelbraune, kresolartige Flüssigkeit dar, die sich in destilliertem Wasser klar löst, mit gewöhnlichem Leitungswasser milchigweiße Mischungen gibt, in denen deutlich weiße Flöckchen erkennbar sind. Die Reaktion ist alkalisch. Nach 24-stünd. Stehen einer 5-proz. Emulsion hatte sich ein dunkelbrauner Bodensatz abgesetzt, während die überstehende Flüssigkeit völlig klar geworden war. Eine Prüfung der überstehenden klaren Flüssigkeit auf ihre keimtötende Kraft mit denselben Bakterienaufschwemmungen wie bei dem Versuche mit der 5-proz. durch Abscheidungen nicht veränderten Emulsion ergab dieselbe Wirkung. Coli-, Diphtherie- und Pyocyaneus-Bazillen sowie Staphylokokken waren schon nach 1 Min. abgetötet. Die Ausscheidungen (Trübungen bis Flocken) bestehen nämlich nicht aus Kresol, sondern aus Kalkseifen, die durch den Kalkgehalt des Leitungswassers bedingt sind.

Bei weiteren Prüfungen ergab sich, daß auch noch 1-proz. Mischungen die gleiche abtötende Wirkung auf Bakterien ausübten, wie die 5-proz., da nach 1 Min. kein Wachstum festzustellen war.

Ein schwächere Wirkung zeigten 0,6- und 0,5-proz. Mischungen; doch ergab sich dabei, daß das Caral-A-Präparat den gleichprozentigen Kresolseifenlösungen stets überlegen war, wie folgende Tabelle zeigt:

Tabelle III.
(Kochsalzaufschwemmungen.)

Bakterienarten	Caral A		Kresolseifenlösung	
	0,6 Proz.	0,5 Proz.	0,6 Proz.	0,5 Proz.
	abgetötet nach			
Coli-Bazillen	1′	1′	10′	30′
Diphtheriebazillen	10′	15′	15′	15′
Pyocyaneus-Bazillen	1′	10′	30′	30′
Staphylokokken	15′	30′	30′	30′

Eine Abschwächung der keimtötenden Kraft trat weiter ein, wenn die Bakterien mit Ascitesflüssigkeit an Seidenläppchen angetrocknet worden waren; zum Vergleiche wurde derselbe Versuch auch mit gleichprozentiger Kresolseifenlösung angestellt:

Tabelle IV.

Bakterienarten	Caral A			Kresolseifenlösung		
	1 Proz.	0,75 Proz.	0,6 Proz.	1 Proz.	0,75 Proz.	0,6 Proz.
	abgetötet nach					
Coli-Bazillen	1′	5′	5′	5′	5′	10′
Diphtheriebazillen	1′	30′	noch lebend nach 30′	10′	30′	15′
Pyocyaneus-Bazillen	5′	5′	15′	5′	10′	15′
Staphylokokken	10′	30′	noch lebend nach 30′	15′	noch lebend nach 30′	noch lebend nach 30′

Auch bei dieser Versuchsanordnung zeigt sich das Caral A-Präparat in 1,0- und 0,75-proz. Konzentration der gleichprozentigen Kresolseifenlösung teilweise überlegen, bei 0,6 Proz. treten die bei den Grenzwerten der abtötenden Dosen bekannten Schwankungen auf.

3b) Versuche mit dem Präparat **Caral B.** Das Präparat B zeigt äußerlich die gleichen Eigenschaften wie das A-Produkt, enthält aber, nach Angabe der Gesellschaft, nicht Kresol, sondern Chlorkresol, und zwar in der Konzentration von 12,5 Proz. Auch bei diesem Präparat ergeben sich mit Leitungswasser dieselben Ausscheidungen wie bei A; die Reaktion der Emulsionen ist alkalisch.

Die mit 5- und 2-proz. Lösungen bzw. Emulsionen angestellten Versuche mit Bakterienaufschwemmungen ergaben mit den auch bei Präparat A verwendeten Mikroorganismen schon nach 1 Min. währender Einwirkungsdauer völlige Abtötung. Ein Vergleich der 1-proz. Caral B-Lösung mit 1-proz. Kresolseifenlösung ergab für beide Präparate dieselben Resultate: Coli-, Diphtherie- und Pyocyaneus-Bazillen wurden schon nach 1 Min. abgetötet; Staphylokokken erforderten hierzu 5 Min. Aus diesem Versuch ergibt sich, daß Caral B mit einem Gehalt von 12,5-proz. Chlorkresol dieselbe abtötende Kraft ausübt, als die 50 Proz. Kresol enthaltende Kresolseifenlösung.

Um die Wirkungsweise des Präparates noch weiter zu prüfen, wurden Vergleichsversuche mit niedereren Konzentrationen (0,75 und 0,5 Proz.) angestellt.

Tabelle V.

Bakterienarten	Caral B		Kresolseife		
	0,75 Proz.	0,5 Proz.	0,75 Proz.	0,5 Proz.	
	abgetötet nach				
Coli-Bazillen	1'	5'	10'	30'	
Diphtheriebazillen	5'	15'	5'	10'	
Pyocyaneus-Bazillen	1'	5'	5'	30'	
Staphylokokken	5'	30'	15'	nach 30'	noch nicht abgetötet.

Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß Caral B in den Konzentrationen obiger Versuche, mit einer einzigen Ausnahme, bei Diphtheriebazillen, der Kresolseife deutlich überlegen ist.

Bei erschwerten Bedingungen, Antrocknung des Bakterienmaterials an Seidenläppchen mittels eiweißhaltiger Flüssigkeit (Ascites), treten Abschwächungen ein, die bei 0,75 Proz. teilweise die Kresolseifenlösung günstiger wirken lassen; bei der 1-proz. Konzentration dagegen ist Caral B wieder bei allen 4 Bakterienarten der Kresolseifenlösung gleichwertig.

Tabelle VI.

Bakterienarten	Caral B		Kresolseife		
	0,75 Proz.	1,0 Proz.	0,75 Proz.	1,0 Proz.	
	abgetötet nach				
Coli-Bazillen	10'	1'	5'	5'	Die Kontrollen zeigen bei allen Versuchen üppiges Wachstum
Diphtheriebazillen	noch nicht nach 30'	1'	noch nicht nach 30'	1'	
Pyocyaneus-Bazillen	10'	1'	5'	1'	
Staphylokokken	noch nicht nach 30'	5'	30'	1'	

Das Präparat Caral B bewahrt also auch unter erschwerten Bedingungen, wenn die Bakterien durch eine Eiweißhülle geschützt sind, noch in 1-proz. Konzentration seine keimtötende Kraft. Für die Praxis dürfte die Anwendung einer 2-proz. Lösung empfehlenswert erscheinen.

4) **Parol** der chemischen Fabrik Dr. F. Raschig, Ludwigshafen a./Rhein. Es handelt sich um ein älteres Präparat, das bisher jedoch noch nicht genügend ausgeprobt worden ist. Das Parol stellt eine braunrote, dickflüssige, klare, fast geruchlose Flüssigkeit dar, die sich mit Wasser leicht vermischen läßt. Die Reaktion ist alkalisch. Parol ist, nach Angabe der Fabrik, ein Parachlormetakresol, dessen Herstellung aus Gemischen von Meta- und Parakresol durch deutsches Reichspatent geschützt ist. Das Parol „flüssig" enthält 33 Gewichtsprozente oder 40 Volumprozente Parachlormetakresol mittels Natronlauge gelöst. Nach dem Bericht der Fabrik übertrifft das Parol in 0,1-proz. Lösung das stärkste aller Bakteriengifte, das Sublimat um das 3-fache und besitzt dabei den Vorzug relativer Ungiftigkeit, ist fast geruchlos und ruft nur unbedeutende Reizwirkungen hervor.

Die ersten Versuche mit Parol hat Laubenheimer[1] ausgeführt und festgestellt, daß Staphylokokken, an Granaten angetrocknet, in 10 Min. von 0,1-proz. Parollösungen abgetötet werden.

---

[1] Laubenheimer, Phenol und seine Derivate als Desinfektionsmittel. Berlin-Wien (Urban u. Schwarzenberg) 1909.

Ausführlicher hat v. Angerer[1]) das Präparat geprüft. Er hat mit Bakteriensuspensionen, mit Granaten und Seidenfäden, an denen die Bakterien angetrocknet waren, und mit Stuhlaufschwemmungen gearbeitet und auch Desinfektionsversuche der Hände ausgeführt. v. Angerer kommt zu dem Schluß, daß das Parol ein stark wirksames Desinfektionsmittel und dem Karbol an Wirksamkeit stark überlegen ist. Für die praktische Anwendung empfiehlt er nicht die von der Fabrik angegebene Konzentration von 0,1 Proz., sondern 0,6 Proz., betont aber, daß in Fällen, in denen die Bakterien in der Tiefe des Materials (Seidenfäden) sitzen, selbst bei 1 und 2 Proz. die Abtötung nicht mehr prompt erzielt wird. Erwähnt wird nicht, ob bei den Versuchen optimale Nährböden verwendet worden sind. Die Versuche Angerers sind in folgender Tabelle übersichtlich zusammengestellt.

Tabelle VII.

a) Abtötung bei der Suspensionsmethode.

Bakterienarten	1′	2′	4′	5′	7′	8′	8½	10′
	in Prozent							
Typhusbazillen	.	— 0,8	.	— 0,4	.	.	.	.
Paratyphus B-Bazillen	.	.	.	.	.	.	.	.
Flexner	.	.	.	.	.	.	.	.
Coli I	.	.	.	.	— 1,0	.	.	.
„ II	— 1,0	.	— 0,6	.	.	.	.	.
„ III	— 1,0	.	.	.	— 0,6	.	.	.
Staphylokokken	.	.	.	.	.	.	.	— 0,9
Stuhlaufschwemmungen	.	.	.	.	.	.	.	.

Bakterienarten	20′	30′	35′	50′	2½ Std.	5 Std.	7 Std.
	in Prozent						
Typhusbazillen	.	.	— 0,2	.	.	.	.
Paratyphus B-Bazillen	.	.	.	.	— 0,2	.	.
Flexner	.	.	.	— 0,2	.	.	.
Coli I	.	— 0,6	.	.	.	.	+ 0,2
„ II	.	.	.	.	.	— 0,2	.
„ III	.	.	.	.	.	.	.
Staphylokokken	.	.	.	.	.	.	.
Stuhlaufschwemmungen	— 0,6	.	.	.	.	.	.

b) Abtötung von Coli-Bazillen, die an Seidenfäden angetrocknet waren.

0,4-proz. Parollösung nach 120 Min.
0,6 „ „ „ 80 „
0,8 „ „ „ 60 „
1,0 „ „ „ 30 „

Die Händedesinfektionsversuche gaben mit 0,5- und 1,0-proz. Parol keine befriedigenden Resultate. Im ersten Fall waren nach 40, im letzteren nach 30 Min. noch reichlich Coli-Kolonien angegangen. Nach 20 Min. war an den Händen das Gefühl der Pelzigkeit eingetreten.

Die Versuche wurden mit Bakterienaufschwemmungen in Kochsalzlösung und Ascitesflüssigkeit sowie mit Seidenläppchen, an denen die Bakterien mit Kochsalzlösung, Bouillon und Ascites angetrocknet worden

---

1) v. Angerer, Ueber das Desinfektionsmittel Parol. (München. med. Wochenschrift. 1918. S. 792.)

waren, angestellt. Zum Vergleich wurde, mit Rücksicht auf die Angabe der Firma, Sublimatlösung herangezogen. Auch einige Desinfektionsversuche von Stuhlproben wurden mit Parol ausgeführt und die abtötende Kraft desselben geprüft.

Die Resultate mit den Bakteriensuspensionen, Läppchenversuchen und Fäzesproben gehen aus folgenden Tabellen hervor:

Tabelle VIII.

Bakterienarten	Kochsalzabschwemmungen					Ascitesabschwemmungen	
	Parol				$HgCl_2$	Parol	
	0,6 Proz.	0,7 Proz.	0,8 Proz.	0,9 Proz.	0,1 Proz.	0,7 Proz.	0,8 Proz.
Coli-Bazillen	— 30'	— 5'	— 1'	— 1'	— 1'	— 5'	— 1'
Diphtheriebazillen	— 15'	— 5'	— 5'	— 1'	— 1'	— 5'	— 1'
Pyocyaneus-Bazillen	— 10'	— 5'	— 1'	— 1'	— 1'	— 5'	— 1'
Staphylokokken	+ 30'	— 15'	— 5'	— 1'	— 1'	— 30'	— 5'

Tabelle IX.

Bakterienarten	Die Bakterien sind an den Seidenläppchen angetrocknet										
	mit Kochsalzlösung					Bouillon			Ascites		
	Parol				$HgCl_2$	Parol			Parol		
	0,9 Proz.	1 Proz.	1,5 Proz.	2 Proz.	0,1 Proz.	1 Proz.	1,5 Proz.	2 Proz.	1 Proz.	1,5 Proz.	2 Proz.
Coli-Bazillen	+ 30'	+ 30'	— 5'	— 1'	— 1'	— 15'	— 10'	— 5'	— 15'	— 10'	— 5'
Diphtheriebazillen	0	0	— 5'	0	— 1'	— 15'	0	0	— 30'	0	— 5'
Pyocyaneus-Bazillen	— 30'	— 15'	— 1'	— 1	— 1'	— 10'	— 5'	— 1'	— 10'	— 5'	— 1'
Staphylokokken	+ 30'	+ 30'	— 15'	— 5	— 1'	+ 30'	— 10'	— 1'	+ 30'	+ 30'	— 5'

Fäzesproben.

		30'	$1^1/_2$ Std.	2 Std.	3 Std.	
0,9 Proz. Parol; es wurde die 3- bis 4-fache Menge auf die Kotmasse gegossen	Probe 1	+	—	—	—	Die Kontrollen zeigen bei allen Versuchen üppiges Wachstum
	„ 2	+	+	+	+	
	„ 3	+	+	—	—	
	„ 4	—	—	—	—	

Die Versuche mit wässerigen Bakterienaufschwemmungen geben erst mit 0,8-proz. Parollösungen eine gute abtötende Wirkung nach 5 Min., doch zeigen auch noch 0,9- und 1,0-proz. Lösungen Schwankungen und erreichen das Resultat, das eine 0,1-proz. Sublimatlösung erzielt, nicht vollkommen. Selbst unter schwierigeren Bedingungen, wie sie Bakterien in eiweißhaltigen Flüssigkeiten (Ascites) aufgeschwemmt bieten, ist 0,8 Proz. die Konzentration, die nach 5 Min. Abtötung erzielt.

Sind die Bakterien an Seidenläppchen angetrocknet, so wirkt das Parol bedeutend schwächer. Bei Antrocknung der Bakterien mit Kochsalzlösung erreicht selbst eine 2-proz. Parollösung nicht ganz die Wirkung einer 0,1-proz. Sublimatlösung. Fast dieselbe Wirkung wird erreicht, wenn die Antrocknung mit Bouillon erfolgt ist. Bei Bakterien, die mit Ascites angetrocknet sind, tritt eine weitere Abschwächung ein; doch tötet 2-proz. Parol die 4 genannten Bakterien noch nach 5 Min. langer Einwirkung ab.

Bei 3 Fäzesproben erfolgte die Sterilisierung mit 0,9-proz. Parol nach 30 Min., $1^1/_2$ und 2 Std. Bei einer 4. Probe war auch noch nach

3 Std. Wachstum eingetreten; es handelte sich hier allerdings um Sporenbildner.

Aus den Versuchen geht somit hervor, daß das Parol die 4 Bakterienarten in wässerigen und eiweißhaltigen Aufschwemmungen erst in 0,8-proz. Konzentration nach 5 Min. abtötet, während bei 0,1-proz. Sublimatlösung dasselbe Resultat schon nach 1 Min. erreicht wird. Bei angetrockneten Bakterien, die sich in einer schützenden Hülle befinden, müssen 2-proz. Parollösungen angewendet werden, um in derselben Zeit die Abtötung zu sichern. Da in der Praxis die Bakterien aber nicht als wässerige Aufschwemmungen, sondern gewöhnlich in Verbindung mit allerlei anderen Substanzen, zum Teil auch Eiweißstoffen ausgeschieden werden, empfiehlt es sich, nicht mit 0,6-proz. Lösungen, wie sie v. Angerer vorschlägt, sondern mit mindestens 2-proz. Parol zu arbeiten, da erst bei dieser Konzentration nach 5 Min. die Vernichtung der Mikroorganismen gesichert erscheint.

5) **Optiform** der chemischen Fabrik Westend, Berlin-Weißensee. Das Präparat stellt eine klare, braune Flüssigkeit von aromatischem Geruche dar, die, nach Angabe der Fabrik, von höherem Desinfektionswerte ist, als die meisten Produkte der gleichen Klasse. Es handelt sich um ein Formalinseifenpräparat, wie das Lysoform. Das Optiform enthielt 8,1 Proz., das zum Vergleich herangezogene Lysoform 5,76 Proz. Formaldehyd nach den Analysen der chemischen Abteilung des Medizinalamtes. Da das Optiform laut Gebrauchsanweisung in 1—5-proz. Lösungen für allerlei Desinfektionsmaßnahmen, wie Spülungen, Händedesinfektion, Füllung von Spucknäpfen und Desinfektion von Ställen bei Tierkrankheiten empfohlen wird, wurde die Prüfung des Präparates zuerst in diesen Konzentrationen vorgenommen. Zugleich wurden Vergleichsversuche mit gleichprozentigen Lysoformlösungen angestellt.

Bei diesen Versuchen ergab sich, daß beide Präparate in 5-proz. Lösungen Coli- und Pyocyaneus-Bazillen sowie Staphylokokken in wässerigen Aufschwemmungen auch nach 30 Min. abzutöten nicht imstande waren. Dasselbe Ergebnis wurde mit 6- und 7-proz. Lösungen erzielt. Da eine 7-proz. Optiformlösung nur 0,567 g und eine ebenso starke Lysoformlösung nur 0,403 Formaldehyd enthält, sind die Ergebnisse leicht erklärlich. Auch die 10-proz. Verdünnungen der beiden Präparate gaben, dem geringen Formaldehydgehalt von 0,81 und 0,576 g entsprechend, dieselben schlechten Ergebnisse; nur Diphtheriebazillen zeigten bei Optiform in dieser Verdünnung nach 30 Min. Abtötung; alle anderen Bakterien waren lebensfähig geblieben.

Erst die 15-proz. Optiformlösung tötete Coli nach 30 Min., Pyocyaneus-Bazillen und Staphylokokken nach 15 Min. ab; die gleichstarke Lysoformlösung brachte Coli-Bazillen nach 15 Min., Pyocyaneus-Bazillen und Staphylokokken nach 30 Min. zur Abtötung.

Bei beiden Präparaten kann also von einer mäßigen abtötenden Wirkung erst bei Anwendung von 15-proz. Lösungen gesprochen werden. Eine Verwendung von 5-proz. Konzentrationen, wie sie z. B. für das Optiform empfohlen wird, muß als durchaus ungenügend und unzulässig angesehen werden. Die Anwendung solcher Verdünnungen ist sogar als gefährlich zu bezeichnen, da damit behandeltes infektiöses Material als entkeimt gilt, während es in Wirklichkeit noch infektiös ist. Vor der Verwendung von unzureichend dosierten Lösungen dieser Präparate muß auf das dringendste gewarnt werden.

6) Versuche mit dem **Präparat C** (Formalinseifenlösung). Die Resultate mit wässerigen Bakterienaufschwemmungen sind aus der Tab. X ersichtlich; zum Vergleiche wurde derselbe Versuch mit einer gleichprozentigen Formalinlösung angestellt.

Tabelle X.

Bakterienarten	Caral C		Formalin (ca. 40 % Formaldehyd	
	10 % (= 1,2 % Formaldehyd	15 % (= 18 % Formaldehyd	3 %	4,5 %
Coli-Bazillen	30′	5′	30′	15′
Diphtheriebazillen	noch nicht abgetötet nach 30′	1′	30′	1′
Pyocyaneus-Bazillen	10	5′	15′	5′
Staphylokokken	30	30′	noch nicht nach 30′	15′

Mit dem 15-proz. Caral C und der 4,5-proz. Formalinlösung wurde noch ein Versuch gemacht, bei dem die Bakterien vermittels Ascitesflüssigkeit an Seidenläppchen angetrocknet worden waren. Im Vergleich zu dem Versuche mit den wässerigen Bakterienaufschwemmungen trat keine nennenswerte Abschwächung der keimtötenden Kraft bei dem Caral C-Präparat ein, wohl aber bei der als Vergleichsflüssigkeit benutzten Formalinlösung, wenngleich dieselbe nicht sehr beträchtlich ist.

Caral C (in 15-proz. Lösung) tötete Coli-, Diphtherie- und Pyocyaneus-Bazillen nach 5 Min. (bei Aufschwemmungen wurden die Diphtheriebazillen schon nach 1 Min. abgetötet), Staphylokokken nach 30 Min. ab. Formalin erzielte bei Diphtheriebazillen nach 5, bei Pyocyaneus-Bazillen nach 10 und bei Coli-Bazillen nach 15 Min. Abtötung. Staphylokokken waren nach 30 Min. noch lebensfähig geblieben.

Die Versuche haben ergeben, daß erst 15-proz. Caral C-Lösungen praktisch einigermaßen brauchbare Resultate liefern, die der Wirkung von Formalinlösungen mit gleichem Formaldehydgehalt sogar etwas überlegen sind. Die schwache Wirkung auf Staphylokokken teilt das Caral C mit allen Formaldehydpräparaten.

Auch hier hat sich das Caralpräparat (C), wie dies bei Caral (A u. B) im Vergleich mit der Kresolseifenlösung der Fall war, der gleichprozentigen Formalinlösung gegenüber sehr oft überlegen gezeigt.

7) **Kentausan** der Firma Dr. Fritz Zeidler in Dresden stellt eine dickflüssige, zähe Flüssigkeit dar, deren Geruch an Ichthyol erinnert. Das Präparat enthält, nach Angabe der Firma, in schwach spirituös alkalischer Lösung eine komplexe Verbindung eines Kresol-Formaldehydharzes, das sehr gut auf der Haut haftet, und allmählich und nachhaltig desinfizierende Substanzen, wie Formaldehyd und Kresol abgibt. Das Kentausan ist in Wasser löslich und eingetrocknet leicht abwaschbar. Der Gehalt an wirksamen Kresol-Formaldehydharz beträgt 12 Proz. Das Kentausan ist speziell als Desinfizienz in der Veterinärmedizin gedacht. Die folgende Tabelle zeigt die Wirkunksweise des Präparates in verschiedenen Konzentrationen auf Bakteriensuspensionen in wässeriger und eiweißhaltiger Flüssigkeit (Ascites), sowie auf Bakterien, die mit Eiweiß an Seidenläppchen angetrocknet worden sind.

Tabelle XI.

Bakterienarten	Kentausan											
	in wässeriger Auf-					und eiweißhaltiger schwemmung						mit
	50 Proz	20 Proz.	10 Proz.	9 Proz.	8 Proz.	30 Proz.	25 Proz.	20 Proz.	15 Proz.	12 Proz.	9 Proz.	15 Proz
											nicht abgetötet nach	
Coli-Bazillen	1'	1'	1'	5'	5'	0	0	0'	1'	30'	30'	5'
Diphtheriebazillen	1'	1'	15'	10'	30'	0	0	0'	1'	15'	30'	1'
Pyocyaneus-Baz.	1'	1'	1'	1'	1'	0	0	0'	1'	15'	15'	1'
Staphylokokken	1'	5'	nicht nach 30' abgetötet			10'	15'	nicht nach 30' abgetötet				noch nach abge

Die Kontrollen zeigten üppiges Wachstum.

Aus den Versuchen ergibt sich, daß 10—15-proz. Kentausanlösungen auf manche Krankheitserreger schon nach 1—5 Min. auch unter ungünstigen Bedingungen abtötend einwirken. Staphylokokken dagegen werden nur schwer, in eiweißhaltigem Medium erst nach recht langer Zeit unschädlich gemacht.

Zur Prüfung des Kentausans, das eine kombinierte Kresol-Formaldehydwirkung ausüben soll, auf die Dauerformen des Milzbrandes, wurden Seidenfäden mit angetrockneten Sporen in 50-proz. und konz. Kensausan eingelegt und dann täglich Proben nach Entfernen von anhaftenden Mengen Kentausans durch Abwaschen in sterilem Wasser auf Nährmedien gebracht und bebrütet. Das 50-proz. Präparat tötete Milzbrandsporen nach 9-täg. Einwirkung noch nicht ab, dagegen wurde im konzentrierten Kentausan nach 7 Tagen eine Abtötung dieser widerstandsfähigen Krankheitserreger erzielt.

Zusammenfassend läßt sich nach den Versuchsergebnissen sagen, daß zu einer wirksamen Desinfektion nur stärkere Kentausankonzentrationen angewendet werden dürfen.

Inhalt.

Becker, Rudolf, Teratologische Studien an Pferdebandwürmern, S. 435.
Ditthorn, Fritz, Ueber einige neuere Desinfektionsmittel II, S. 486.
Eichhoff, Erich, Beitrag zur Meningokokkendiagnose, S. 461.
Graetz, Fr., Ueber die Verbreitungsweise der Diphtheriebazillen im menschlichen Organismus, S. 401.
Moll, Theodor, Untersuchungen über die Wirksamkeit einiger chemischer Infektionsmittel auf Tetanussporen, S. 416.
Plaut, Rahel, Ueber drei Fälle von Infektion mit echten, streng anaëroben Streptotricheen, S. 440.
Reichenow, Eduard, Eutrichomastix lacertae im Blut und in blutsaugenden Milben, S. 466.
Rodella, A., Beitrag zum Studium der Aktinomykose, S. 450.
Seebohm, Hans, Ueber Herstellung und Anwendung von Impfstoffen zur Behandlung bakterieller Krankheiten, S. 479.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 84. Heft 7/8.
Ausgegeben am 14. August 1920.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über den Pfeifferschen Influenzabazillus während der Grippepandemie 1918—1920. I.

[Aus dem Pathologischen Institut des Allgemeinen Krankenhauses St. Georg-Hamburg (Prof. Simmonds) und dem Hygienischen Institut der Universität Freiburg i. B. (Prof. M. Hahn).]

Von Dr. **Otto Olsen.**

Mit einer Kurve.

Ueber die Bakteriologie der Grippepandemie während des Abschnitts 1918—19 liegt in der Literatur eine Anzahl abschließender Mitteilungen vor, so daß ein Ueberblick jetzt möglich ist. Der Charakter, der bei dieser Pandemie — wie es scheint — besonders reichlich auftretenden Streptokokken und Pneumokokken als Sekundärerreger wird, abgesehen von einigen Ausnahmen, z. B. Bernhardt, der in dem von ihm regelmäßig nachgewiesenen Diplococcus epidemicus den Erreger sieht, allgemein anerkannt.

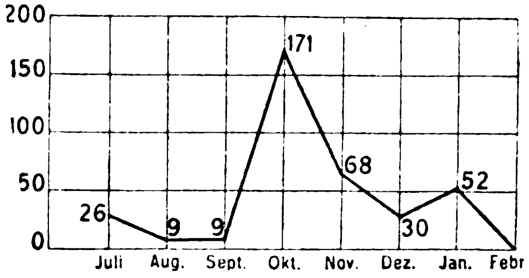
Große Meinungsverschiedenheiten bestehen indessen über die Rolle des Pfeifferschen Influenzabazillus. Von zahlreichen Untersuchern wurde er entweder ganz vermißt, oder nur in geringer Prozentzahl der Fälle angetroffen, seine ätiologische Bedeutung daher angezweifelt oder ganz in Frage gestellt (Mandelbaum, Hirschbruch, Selter, Lubarsch, Benda, Schmorl, Hesse, Schöppler, Köpchen, v. Gruber, Kolle, Friedemann, Bernhardt, Bernhardt-Meyer, Schottmüller, Grätz, Friedberger und Konitzer u. a.). Positive Befunde anderer Autoren haben an dieser, von einem großen Teil der Aerztewelt angenommenen Auffassung bisher im allgemeinen nichts ändern können (Pfeiffer, Uhlenhuth, Gotschlich, Schürmann, Simmonds, v. Bergmann, Klemperer, Dietrich, Neufeld-Papamarku, Schiemann, Leichtentritt, v. Hösslin, Ernst Fränkel, Fromme, Korbsch, Mahlo, Eugen Fränkel, Olsen, Zeißler, Messerschmidt, Hundeshagen und Scheer, Sobernheim u. a.).

1. Eigene Untersuchungen.

Das reiche Material des Pathologischen Instituts am Krankenhaus St. Georg in Hamburg, das eine wertvolle Ergänzung fand in den vom Reservelazarett Technikum gelieferten Sektionsfällen, gab Gelegenheit, den Nachweis des Influenzabazillus bei den dort obduzierten Grippefällen zu versuchen. Von Wichtigkeit erschien die Untersuchung möglichst zahlreicher Fälle, besonders nach dem Bekanntwerden der ersten Mißerfolge im Nachweis der Influenzabazillen, um die Fehlerquellen auszuschalten, die bei der Untersuchung nur weniger Fälle stets unterlaufen können, und die wohl auch zum Teil für die einander widersprechenden Untersuchungsergebnisse der Literatur verantwortlich zu machen sind.

Die hier angestellten Untersuchungen wurden mit einigen Unterbrechungen vom Juli 1918 bis Ende Januar 1919 gleichmäßig durchgeführt, umfassen also die wichtigsten Episoden dieses ersten Abschnitts der Pandemie. Bevorzugt wurde im allgemeinen das unter Leitung meines früheren hochverehrten Chefs, Herrn Prof. Simmonds, obduzierte pathologisch-anatomische Material, und zwar der Respirationstraktus, vor allem die Lungen. Im Herzblut, dessen Untersuchung an der Leiche in St. Georg bei Verdacht auf bakterielle Komplikationen regelmäßig vorgenommen wird, fanden sich häufig Streptokokken, Pneumokokken und Staphylokokken, indessen nie Influenzabazillen. Gelegentliche, nicht systematisch durchgeführte Untersuchungen von anderen Organen, z. B. der Milz, blieben, wie ebenfalls vorweg bemerkt sei, in bezug auf den Nachweis der Influenzabazillen ohne Ergebnis (vgl. aber Leichtentritt, v. Hösslin).

Schon bei dem 1. im Juli 1918 von mir untersuchten Fall, es war der 13. obduzierte, fanden sich in der Lunge kulturell in reichlicher Menge typische Influenzabazillen. Dieser Befund war in der Folgezeit so regelmäßig zu erheben, daß Simmonds schon Anfang August darüber berichten konnte und auf Grund sowohl der Aehnlichkeit der anatomischen Bilder mit den während der 80er und 90er Epidemie beobachteten, als auch des Nachweises der Influenzabazillen den Schluß zog, daß es sich um dieselbe Krankheit handelte, wie die der Jahre 1889—94. Die Zahl der obduzierten Influenzafälle während der einzelnen Monate, die auch epidemiologisches Interesse bietet, geht aus folgender Tabelle hervor, deren Kurve im großen ganzen derjenigen der allgemeinen Sterblichkeit und der Sterblichkeit an Grippe in Hamburg entspricht, über die Nocht berichtet hat. Das Gros der Obduzierten betraf Individuen im Alter von 15—35 Jahren; aber auch aus dem 7. und 8. Dezennium kamen Todesfälle vor.



Bezüglich der pathologischen Anatomie der untersuchten Fälle sei auf die vorläufigen Mitteilungen von Simmonds verwiesen. Die Bilder, die sich am Respirationstraktus darboten, waren außerordentlich wechselnd. Es wurden Lungen untersucht mit bald schlaffen, blutreichen Infiltraten von glatter Schnittfläche, bald derberen, hämorrhagischen Herden, bald roten oder grauen Hepatisationen, oft mit Zerfalls- und Eiterherden innerhalb der infiltrierten Partien und Nekrose der darüberliegenden Pleura. Larynx, Trachea und Bronchien zeigten in frischen Fällen stets intensive Rötung, häufig Pseudomembranen und Nekrosen der Mukosa.

Die Diagnose des Klinikers hatte in sämtlichen Fällen Influenza oder Grippe gelautet oder war auf Influenza modifiziert worden. Es fand also stets der auf Grippe hindeutende Befund des Anatomen eine Ergänzung in der klinischen Diagnose, so daß mit größter Wahrscheinlichkeit angenommen werden kann, daß es sich bei allen angeführten Fällen tatsächlich um Grippe gehandelt hat.

Der bakteriologische kulturelle Lungenbefund bei den hier zunächst angeführten 221 Sektionsfällen war folgender: Pfeiffersche Influenzabazillen fanden sich 166mal oder in 75 Proz. der Fälle, und zwar 13mal in Reinkultur oder fast in Reinkultur neben ganz spärlichen Kolonien anderer Bakterien, 30mal in sehr reichlichen Mengen, d. h. in mindestens gleicher Koloniezahl wie Begleitbakterien, 64mal in reichlichen und 59mal in spärlichen Mengen neben überwiegend vorhandenen anderen Keimen, 125mal wurden Streptokokken, 107mal Staphylokokken, 50mal Pneumokokken, daneben eine große Anzahl anderer, jedoch nicht regelmäßig angetroffener, grampositiver und gramnegativer Kokken und Stäbchen verschiedener Art nachgewiesen. Beachtenswert ist dabei, daß — wie in dem Material von Grätz — in der Lunge die Pneumokokken hinter Staphylokokken und Streptokokken zurücktraten, während sie im Sputum nach den meisten bisher darüber erschienenen Mitteilungen vorherrschen. Bei 2 Fällen von Laryngotrachealdiphtherie, die auch klinisch das Bild der Mischinfektion von Grippe und Diphtherie geboten hatten, fanden sich außer Influenzabazillen Diphtheriebazillen.

Verschiedentlich gelang bei den Sektionsfällen auch in der Trachea, bei Lebenden aus Tonsillarabstrichen und aus dem Sputum der Nachweis der Influenzabazillen. Systematische Sputumuntersuchungen, gleichzeitig am bakteriologischen Laboratorium des Pathologischen Instituts von Jacobsthal und Tebrich (vgl. Simmonds) vorgenommen, ergaben ebenfalls einen hohen Prozentsatz positiver Influenzabazillen — Befunde (nach mündlichen Mitteilungen etwa 60 Proz.).

Die bakteriologischen Lungenbefunde während der einzelnen Monate während des Abschnitts 1918/19 finden sich in Tabelle 2 zusammengestellt.

Tabelle 2.

	Juli	Sept.	Okt.	Nov.	Dez.	Jan.	Insgesamt
Untersuchte Sektionsfälle	6	8	129	41	21	16	221
Influenzabazillen	6mal	2mal	97mal	33mal	18mal	10mal	166
Streptokokken	5 „	3 „	68 „	27 „	10 „	10 „	125
Staphylokokken	1 „	3 „	67 „	22 „	7 „	7 „	107
Pneumokokken	0 „	2 „	25 „	8 „	5 „	5 „	50

Die Prozentzahl der Influenzabazillenbefunde blieb danach während der einzelnen Monate, abgesehen von Schwankungen im Juli und September, die bei dem in Betracht kommenden kleinen Material keine Schlüsse erlauben, durchweg auf derselben Höhe. Dasselbe gilt für die Staphylokokken-, Streptokokken- und Pneumokokkenbefunde. Es zeigte sich also kein besonderes Hervortreten eines Erregers zu irgendeiner Zeit, das etwa eine Deutung der verschiedenen Zacken der Sterblichkeitskurve (vgl. Tab. 1), insbesondere der Oktoberzacke, zulassen könnte.

In mikroskopischen Ausstrichpräparaten fand sich häufig die bereits vielfach beschriebene Massenhaftigkeit des Auftretens von Streptokokken, Staphylokokken und Pneumokokken. In einigen Schnittpräparaten war das Gewebe dicht durchsetzt von enormen Massen eng aneinander gelagerter und wirr verschlungener Kokkenketten. In Ausstrichpräparaten gelang es nach einiger Uebung, neben diesen auch vereinzelte und reichlichere Influenzabazillen nachzuweisen. Es fanden sich endlich auch Bilder mit enormen Mengen feinster, teils intra-, teils extrazellulär gelagerter Stäbchen, die in schönster Weise Pfeiffers Beschreibung von 1892 entsprachen. Ungleich schwieriger war der Nachweis in Schnitten, bei denen auch in unserem Material das Auffinden von mit einiger Wahrscheinlichkeit als Influenzabazillen zu deutenden Stäbchen nur selten gelang.

Der Nachweis der Influenzabazillen gelang gerade bei frischen und unkomplizierten Fällen, die keine Eiterungen des Lungengewebes aufwiesen, andererseits aber auch bei solchen, die aus irgendwelchen Gründen, z. B. wegen langdauernden Empyemen, längere Zeit nach dem Abklingen der akuten Erscheinungen seziert wurden, bisweilen noch 2—3 Monate nach Beginn der Erkrankung. In 56 Lungen mit mehr oder minder ausgebreiteten, eitrigen Einschmelzungen waren nur 31mal Influenzabazillen, dagegen 35mal Streptokokken vorhanden. Auch in verschiedenen Partien des Gewebes innerhalb eines und desselben Lungenlappens fanden sich derartige Unterschiede. Der Nachweis der Influenzabazillen mißlang nämlich — bei mehreren Untersuchungen, bei denen auf diesen Umstand geachtet wurde — stets in den Eiterherden, wo sich fast immer enorme Massen der Sekundärerreger fanden. Es glückte dagegen das Auffinden häufig in frischen und weniger schwer veränderten Gebieten desselben Lappens. Nicht nur in Lungen mit eitrigen Einschmelzungen und Zerfallsherden zeigten sich derartige Verhältnisse, auch innerhalb eines Lungenlappens mit rein pneumonischen Veränderungen bestanden deutliche Unterschiede in der Zahl der Influenzabazillen; an verschiedenen Stellen wiederum waren diese in den frischen Partien reichlicher und häufiger anzutreffen als in den älteren. Auch bei vergleichenden Untersuchungen von Proben aus dem Lungengewebe selbst und von solchen aus den feineren Bronchien förderten in der Regel letztere, wie das ja schon bekannt ist, reichlichere Mengen von Influenzabazillen zutage als erstere.

Im allgemeinen wurde aus äußeren Gründen nur 1 Lungenlappen untersucht. Die verschiedene Lokalisation der Influenzabazillen schon innerhalb eines Lungenlappens, auf deren Bedeutung später noch eingegangen werden soll, das Fehlen an einer Stelle, das Vorhandensein an anderer, läßt erwarten, daß bei Ausdehnung der Untersuchung auf verschiedene Stellen der übrigen Lappen die Zahl der negativen Befunde sich nicht unbeträchtlich hätte vermindern und eine erhöhte Ausbeute an positiven Befunden sich hätte erzielen lassen. Für den Untersucher beachtenswert ist, daß der Ort der Entnahme der zu untersuchenden Probe für den Fall der Untersuchung keineswegs gleichgültig ist, sondern daß auch bei pathologisch-anatomischem Material vor der Aussaat bestimmte Vorbedingungen erfüllt sein müssen, wie das auch bei Sputumuntersuchungen der Fall ist, ohne die günstige Resultate nicht zu erwarten sind. Erfahrungsgemäß versprechen Proben aus sehr blut- und saftreichem Gewebe, aus Eiter- uud Nekroseherden oder deren nächster Umgebung, aus Gewebspartien mit vorgeschrittenen Infiltrationen geringeren Erfolg als solche aus den feineren Bronchien im Bereich frischer pneumonischer Herde.

Der Nachweis der Influenzabazillen mißlang in 55 Fällen, von denen über die Hälfte eitrige Einschmelzungen des Lungengewebes aufwiesen. Von den übrigen negativen Fällen mit rein pneumonischen Veränderungen der Lungen ohne Komplikationen mit Eiterung und Zerfall hatten 4 ausgesprochen lobär pneumonischen Charakter, bakteriologisch fanden sich bei diesen 2mal Staphylokokken, 1mal Pneumokokken und 1mal Friedländer-Arten, so daß hier, in Anbetracht der vorhandenen, auf Grippe hindeutenden Symptome, möglicherweise eine Komplikation von Grippe mit einer krupösen Pneumonie (oder umgekehrt) vorlag, bei der die Erreger des letzteren das Uebergewicht hatten. Jedenfalls waren bei mehr als der Hälfte der negativen Fälle schwere Komplikationen mit Sekundärerregern vorhanden, die möglicherweise anwesende Influenzabazillen hätten überwuchern können. Weniger als die Hälfte der negativen Befunde, d. h. etwa 10 Proz. der insgesamt untersuchten Fälle, fiel auf Lungen mit rein pneumonischen Veränderungen. Influenzabazillen wurden endlich vermißt in weiteren 20, gleichzeitig während der Pandemie untersuchten Lungen, die entweder keine oder nur geringe pathologische Veränderungen aufwiesen, bei denen weder Anatom noch Kliniker einen Verdacht auf Grippe ausgesprochen hatten.

Durch die Liebenswürdigkeit des Herrn Geheimrat Aschoff wurde es mir ermöglicht, auch in Freiburg während des weiteren Verlaufs der Jahre 1919 und 1920 die Ausklänge des 1. Abschnittes der Pandemie und ihren Neuanstieg während der ersten Monate 1920 an einer Anzahl von Sektionsfällen bakteriologisch zu verfolgen. Wenn es sich hierbei auch nicht um systematisch vorgenommene Untersuchungen handelt, so können aus ihrem Ausfall auf die Rolle des Influenzabazillus doch mit Sicherheit dieselben Schlüsse gezogen werden, die sich aus den hier ausführlich wiedergegebenen Untersuchungen während der ersten großen Wellen der Pandemie ergeben. Bemühungen, den Influenzabazillus außer in der Lunge auch an anderen inneren Organen, im Gehirn, Milz und im Blut zu züchten, blieben auch in diesen Stadien der Pandemie bei mehrfachen Versuchen ergebnislos.

2. Technik und Nährboden.

Bei der angewandten Technik wurden in erster Linie die eben hervorgehobenen Erfahrungen berücksichtigt. Die Untersuchungsmethode war folgende: Eine möglichst sauber entnommene Lunge wurde mittels sterilen Messers angeschnitten und nun nach Betrachtung der Schnittfläche und sorgfältiger Auswahl des Orts der Entnahme, einem klaffenden feineren Bronchus mittels Platinöse Sekret entnommen, dieses auf eine Blutagarplatte übertragen und der

Sekrettropfen dann mit der in der Flamme sterilisierten Kuppe eines Reagenzröhrchens ausgestrichen. Das Ausstreichen mittels eines solchen mit Wasser gefüllten Röhrchens, dessen Kuppe in der Flamme rasch sterilisierbar und wieder abkühlbar ist, ist ein Verfahren, das, im Jacobsthalschen Laboratorium allgemein verwendet, sich auch hier bewährte. Nach Bebrütung der Platte bei 37° wurden in jedem Fall Klatschpräparate angefertigt und nach Gram gefärbt. Bei zunächst negativem Befunde ermöglichten mehrmals an verschiedenen Stellen, namentlich auch aus dicht besäten und makroskopisch scheinbar unverdächtigen Partien angefertigte Klatschpräparate Auffindung und Weiterzüchtung des Influenzabazillus. Das Aufsuchen der Influenzabazillen im Klatschpräparat wurde ungemein erleichtert durch das ganz charakteristische, bei einiger Uebung sofort zu erkennende Aussehen des gefärbten Abklatsches der Influenzabazillen-Kolonie bei Verwendung des schwachen Trockensystems. Zum Auffinden und Abimpfen versteckter Influenzabazillen-Kolonien leistete auch das von der Firma Zeiß hergestellte binokuläre Plattenmikroskop gelegentlich gute Dienste. Im allgemeinen wurde die Reinzüchtung angestrebt. Indessen ist diese für die Identifizierung des Influenzabazillus, namentlich bei Massenuntersuchungen, bei denen sich Schwierigkeiten ergeben, nicht unbedingt erforderlich. Der Nachweis typischer Kolonien in der Originalkultur, das häufig zu beobachtende Auftreten von größeren Kolonien in der Umgebung von Kolonien anderer Bakterien, das charakteristische Aussehen des gefärbten Kolonieabklatsches bei schwacher Vergrößerung, endlich der Nachweis typischer Stäbchen im Klatschpräparat bei der Gram-Färbung genügen zweifellos für die Stellung der Diagnose, namentlich auch dann, wenn gleichzeitig mit Originalmaterial besäte, gewöhnliche Agarplatten keine influenzaartigen Kolonien aufweisen.

Als Nährboden für die Originalkultur wurde die frisch bereitete Blutagarmischplatte vorgezogen, die angefertigt wurde, indem verflüssigter, 42° warmer Nähragar mit sterilem, defibriniertem Menschenblut (0,5—1,0 : 10,0) gut gemischt und dann in Petri-Schalen ausgegossen wurde. Die Blutagarmischplatte ermöglicht dem mit ihrer Anwendung Vertrauten eine rasche Orientierung über die Art der Begleitbakterien und die sofortige Trennung der Pneumokokken von hämolysierenden Streptokokken usw. Sie zeigt ferner die charakteristische Eigenschaft der Influenzabazillen, in der Umgebung von Kolonien anderer Bakterien größere Kolonien zu bilden. Der Voges-Agar, der hergestellt wird, indem zunächst einige Tropfen Blut in die Petri-Schale gebracht und dann mit flüssigem Agar von 100° vermischt werden, sowie die besonders von amerikanischer Seite empfohlenen, bei verschiedener Temperatur erhitzten, unfiltrierten Blut-Nähragargemische, namentlich auch der neuerdings von Levinthal angegebene, aufgekochte und dann filtrierte Blutagar erwiesen sich, was die darauf zu erzielende Ueppigkeit des Wachstums der Influenzabazillen betrifft, der gewöhnlichen, frisch bereiteten Blutagarplatte weit überlegen. Eine Erhöhung der Zahl der positiven Influenzabazillenbefunde ließ sich mit ihnen aber nicht erzielen (vgl. Grätz). Die mit der gewöhnlichen Blutagarplatte erzielten Ergebnisse gingen auch bei mir ausnahmslos parallel mit denjenigen, die sich mit dem Levinthal-Agar erreichen ließen. Nach dieser Richtung bietet der Levinthal-Agar demnach keine Vorteile; ein Nachteil ist, daß er in bezug auf die Differenzierungsmöglichkeit der Begleitbakterien sich von der gewöhnlichen blutfreien Agarplatte nicht unterscheidet und die eben hervorgehobenen Vorzüge des gewöhnlichen Blutagars in dieser Beziehung vermissen läßt, Gründe, die auch Schottmüller veranlassen, sich für die gewöhnliche Blutagarplatte einzusetzen. Es ist dies ein Mangel des Levinthal-Agars, der durch die darauf zu erreichende Ueppigkeit des Wachstums der Influenzabazillen, die aus verschiedenen Gründen sehr zu begrüßen und als großer Erfolg anzusehen ist, namentlich auch der Lösung der biologischen Probleme des Influenzabazillus neue Aussichten eröffnet, die aber für die Diagnose jedenfalls des Geübten belanglos sein dürfte, durchaus nicht aufgewogen wird. Für diagnostische Zwecke ist die Levinthal-Platte daher höchstens bei gleichzeitiger Verwendung einer gewöhnlichen Blutagarplatte zu empfehlen. Für die Weiterzüchtung des Influenzabazillus für die Herstellung von Massenkulturen für serologische Zwecke ist dagegen der Levinthal-Agar unentbehrlich. Es ist dabei aber die von Levinthal angegebene, oft sehr zeitraubende Filtration von den Blutkoagula nicht einmal nötig. Vorteile bietet der Levinthal-Agar noch in einem anderen Sinne. Abweichungen von der optimalen Reaktion des Nährbodens gegen die der Influenzabazillen auf der gewöhnlichen Blutagarplatte, wenn er darauf in Reinkultur vorhanden ist, außerordentlich empfindlich ist, verträgt er, wie ich mich durch einige Versuche überzeugen konnte, auf dem Levinthal-Agar innerhalb gewisser Grenzen, ganz ähnlich also, wie auch auf gewöhnlichem Blutagar die Gesellschaft von fördernden Keimen eine gewisse Resistenz des Influenzabazillus gegenüber Reaktionsschwankungen zu erzeugen vermag. Die Bedeutung der Reaktion des Nährbodens für das Wachstum der Influenzabazillen ist seit seiner Entdeckung genügend gewürdigt worden; es soll darauf an dieser Stelle aber kurz eingegangen werden, weil von der Beachtung dieses Umstandes bei der Züchtung der Influenzabazillen außerordentlich viel abhängt. Es bewährte sich bei meinen Untersuchungen, die Alkalisierung mit Natronlauge bis zum Phenolphthaleinpunkt, und zwar bis zur eben erkennbaren Rosafärbung, vorzunehmen. Ist aus irgendwelchen Gründen eine ständige, besonders bei negativen Befunden erforderliche Kontrolle der Reaktion des verwendeten Nährbodens nicht möglich, so ist auch für diagnostische Zwecke dem Levinthal-Agar der Vorzug zu geben, da mit ihm unter derartigen Verhältnissen Versager weniger zu erwarten sind, als bei dem gewöhnlichen Blutagar. Daß aber auch beim Levinthal-Agar Mißerfolge möglich sind, die nicht auf ungenügende oder zu starke Alkalisierung, sondern auf andere Ursachen zurückzuführen sind, zeigte sich im Verlauf meiner Untersuchungen. Es versagten dabei nämlich gelegentlich der Levinthalsche Nährboden gleicheitig mit dem gewöhnlichen Blutagar trotz richtiger Einstellung der Reaktion unter den gleich zu schildernden Umständen.

Während die Züchtung von Influenzabazillen zunächst bei zahlreichen Fällen in einwandfreier Weise gelungen war, blieb eines Tages auf Blutagar, der mit einer neuen Nährbodenabkochung hergestellt war, welche die gleichen Bestandteile enthielt und in gleicher Weise zubereitet worden war, wie der vorher mit Erfolg benützte Nähragar, ein Wachstum der Influenzabazillen aus. Diese Erscheinung wiederholte sich in weiterem Verlauf einige Male, und zwar so, daß auf einer Abkochung ein Wachstum von Influenzabazillen überhaupt ausblieb; auch wenn Kolonien von Bakterien gleichzeitig vorhanden waren, deren fördernde Wirkung sich in früheren Versuchen gezeigt hatte, oder aber, daß auf einer anderen Abkochung Influenzabazillen wohl in Symbiose mit gewissen Bakterien, nicht aber in Reinkultur ohne Anwesenheit solcher Keime auf der Platte und nicht endlich in Gesellschaft mit anderen nicht fördernden Keimen gezüchtet werden konnten. Als Grund hierfür eine falsche Reaktion des Nährbodens anzunehmen, lagen in diesem Falle irgendwelche Anhaltspunkte nicht vor. Es mußten andere Ursachen vermutet werden. Als bemerkenswert aus einigen Versuchen über das Verhalten der Influenzabazillen gegenüber gewissen Variationen in der Menge der Bestandteile des Nähragars, außer dem Säure- und Alkaligehalt, ist hervorzuheben, daß diese gegenüber Veränderungen der Kochsalzkonzentration (0—2-proz.) verhältnismäßig große Widerstandsfähigkeit zeigten, dagegen auffallend empfindlich waren gegenüber höheren Konzentrationen des Agars, jedenfalls des bei diesen Versuchen verwendeten, von der Kaiser Wilhelms-Akademie bezogenen Agars. Während in einigen Versuchsreihen fast sämtliche mit Influenzabazillen-Reinkulturen beimpften Blutagarplatten, die mit 1-proz. Agar bereitet waren, nach der Bebrütung bei 37° C typisches Wachstum zeigten, blieb schon bei der Verwendung von $2\frac{1}{2}$-proz. Agar eine größere Zahl von Platten unbewachsen; mit 3proz. Agar ließ sich überhaupt kein Wachstum von Influenzabazillen mehr erzielen. Ob die bei meinen Hamburger Untersuchungen beobachteten Mißerfolge auf zu starke Konzentration des Agars — der dazu verwendete Agar war 3-proz. — oder auf andere Ursachen zurückzuführen sind, muß dahingestellt bleiben. Seitdem ich den bei der Arbeit mit Influenzabazillen verwendeten Agar selbst bereite und nur $1\frac{1}{2}$-proz. Agargehalt benutzte, habe ich nur günstige Ergebnisse zu verzeichnen gehabt. Es empfiehlt sich also, die Tatsache, daß eine zu hohe Konzentration des Agars unter Umständen das Wachstum der Influenzabazillen zu hemmen vermag, besonders bei negativen Befunden immerhin zu berücksichtigen.

Bedeutung hat die Labilität der Influenzabazillen, ihre Empfindlichkeit gegen scheinbar geringfügige Umstimmungen ihrer Ernährungsbedingungen, namentlich für die Beantwortung der Frage, wie die auffallenden Unterschiede in den Resultaten der verschiedenen Untersucher zu erklären sind. Auf einige Umstände, die bei der Untersuchung auf Influenzabazillen Mißerfolge herbeiführen können, wurde bereits hingewiesen. So mag die Ueberwucherung durch die gerade bei der jetzigen Epidemie in enormen Massen auftretenden Begleitbakterien wie auch von anderer Seite bereits betont wurde, Ursache eines Teils der negativen Befunde sein. Nicht genügend sorgfältige Auswahl des Ortes der Sekretentnahme bei pathologisch-anatomischem Material, Untersuchung längerer Zeit gestandenen Sputums können daher um so eher Fehlerquellen bedingen. Waren aber die geforderten Vorbedingungen vor der Aussaat erfüllt, so ist, wie die eben geschilderten Zufälle begründen, vermutlich in der Verwendung eines ungeeigneten Nährbodens eine Erklärung für den größten Teil der Mißerfolge zu suchen. Erforderlich ist daher bei negativen Befunden der Nachweis, daß bei sonst optimalen Bedingungen auf der verwendeten Nährbodenabkochung ein Wachstum von Influenzabazillen-Reinkulturen eintritt. Auch vereinzelte positive Befunde in der Originalkultur aus Sputum- oder Bronchialsekret sind kein Beweis für die Güte des benutzten Nährsubstrates: Es könnte sich gerade hier um einen Nährboden handeln, auf dem die Influenzabazillen wohl in Symbiose mit fördernden Keimen, unter anderen Bedingungen aber nicht als Reinkulturen oder in Gesellschaft mit nichtfördernden Stämmen züchtbar wären. Nur bei Ausführung der erwähnten Kontrolle, die den Beweis erbringt, daß die Züchtung von Influenzabazillen-Reinkulturen auf dem verwendeten Nährboden möglich ist, läßt sich der begründete Einwand, es sei kein geeigneter Nährboden verwendet worden, in solchen Fällen zurückweisen. Ueber die von den verschiedenen Untersuchern, denen ein regelmäßiger Nachweis der Influenzabazillen nicht glückte, verwendeten Nährböden finden sich in den betreffenden Mitteilungen meist keine näheren Angaben, aus denen irgendwelche Schlüsse auf eine etwaige Unbrauchbarkeit gezogen werden könnten. Nur Grätz gibt die Verwendung 3-proz. Fleischwasseragars an, einer Konzentration also, die unter Umständen als Fehlerquelle in Betracht kommen könnte.

3. Morphologisches und kulturelles Verhalten.

Was das morphologische und kulturelle Verhalten der nachgewiesenen Influenzabazillen betrifft, so entsprach es in der Regel dem von Pfeiffer angegebenen. Es fanden sich dann in der Originalkultur die charakteristischen, feinsten Stäbchen, hin und wieder mit leichter Neigung zu Scheinfädenwirkung. Nicht selten wurden aber auch Abweichungen davon beobachtet. Es zeigten sich in bunter Mannigfaltigkeit neben kokkoiden plumpere ovoide, aber auch polymorphe, zum Teil kolbige, diphtheroide Stäbchen und äußerst vielgestaltige, kurze, sowie längere Scheinfädenbildungen, ähnlich den Abbildungen, die Graßberger veröffentlicht hat. Außerdem traten gelegentlich feinste, an den Bordet-Gengouschen Keuchhustenbazillus erinnernde Stäbchen mit Polfärbung (s. auch Fromme und Leichtentritt), ja tropfenartige Formen, wie beim Pestbazillus, auf. Die Annahme, daß es sich dabei um Involutionsformen handelte, wurde zumeist durch ihr typisches Verhalten schon in der nächsten Generation bestätigt. Die Ursache ihres Auftretens war vermutlich in irgendwelchen ungünstigen Bedingungen meines Hamburger Nähragars gelegen. Dafür spricht, daß ich in Freiburg weder ein völliges Versagen des Nährbodens, noch, außer Scheinfädenbildung, derartige Formen beobachten konnte. Auch hyper- und hypotonischer Kochsalzgehalt (0—5-proz.) des hier verwendeten Agars vermochte ebensowenig derartige Bilder hervorzurufen, wie dies durch Aufschwemmung von Influenzabazillen in derartigen reinen Kochsalzlösungen zu erreichen war.

Auf den Kulturen wurden auf gewöhnlichem Blutagar außer typischen, winzigen Kolonien häufig die von Graßberger zuerst beschriebenen größeren und Riesenkolonien in der Umgebung von Kolonien der verschiedensten Bakterienarten beobachtet. Außerdem fanden sich in einem Falle eigentümliche Kolonieformen von Influenzabazillen, die nicht auf dem Nährsubstrat selbst, sondern auf den Kolonien einer fremden Bakterienart wuchsen. Es handelte sich um eine Blutagarplatte mit hämolysierenden Streptokokken, die an dichter besäten Stellen rasenartig, an den dünner bewachsenen als isolierte, flache Scheiben bildende Einzelkolonien aufgegangen waren. Neben diesen fand sich eine Anzahl isoliert stehender, durchsichtiger, winziger Influenzabazillen-Kolonien, daneben aber eine große Zahl dem Streptokokkenrasen und auffallenderweise den isoliert stehender Streptokokkeneinzelkolonien, zwischen denen große Flächen völlig unbewachsenen Nährbodens vorhanden waren, knopfkolonienartig aufsitzende, saftige, graue, bis 1,5 mm im Durchmesser betragende Kolonien, die sich in der nächsten Generation typisch verhielten. Die Deutung dieser eigentümlichen Erscheinung, die ich übrigens in so charakteristischer Weise nie wieder gesehen habe, möchte ich mir bis zum Abschluß von Untersuchungen über die Symbiosefrage vorbehalten.

Irgendwelche Abweichungen der gezüchteten Streptokokken und Staphylokokken von der Norm, wie diese z. B. Bernhardt konstatiert hat, konnten nie festgestellt werden.

4. Die Bedeutung des Influenzabazillus.

Die Ergebnisse der angeführten Untersuchungen, namentlich die hohe Prozentzahl der positiven Befunde, die sich möglicherweise durch Ausdehnung der Untersuchung auf verschiedene Stellen sämtlicher Lungenlappen noch hätte erhöhen lassen, das regelmäßige Vorkommen bei der Prüfung eines großen Materials während der mehrmonatigen Dauer der Pandemie lassen über die Rolle des Influenzabazillus keinen Zweifel. Sie widerlegen in Gemeinschaft mit den an den verschiedensten Orten, auch in der Schweiz, in Frankreich, Spanien und Portugal erhobenen Befunden den Einwand, dem Influenzabazillus käme schon deshalb eine ätiologische Bedeutung nicht zu, weil er bei der jetzigen Pandemie nicht oder nur in verschwindender Zahl anzutreffen sei (Schmorl, Oberndorfer, Mandelbaum u. a.). Auch der Einwand, den Grätz vorbringt, daß die Widersprüche der verschiedenen Gruppen von Untersuchern, unter der Voraussetzung der gleichen Sorgfalt der Untersuchung, nur in einer Verschiedenartigkeit des den einzelnen Autoren zur Verfügung gestandenen Materials zu suchen seien, kann danach zum mindesten in dem von Grätz angedeuteten Sinne nicht zutreffend sein. Grätz, dem der Nachweis von Influenzabazillen am Krankenhause Barmbeck in Hamburg nur in ganz vereinzelten Fällen glückte, sah dies als einen untrüglichen Beweis dafür an, daß der Influenzabazillus keinesfalls als Primärerreger in Betracht komme und selbst als Erreger von Sekundärinfektionen eine weit untergeordnetere Rolle spielt, als etwa der Pneumokokkus oder der hämolytische Streptokokkus. Sollte nun wirklich die Tatsache, daß die am Krankenhause St. Georg, also an Fällen des Hamburger Bezirks St. Georg, im Verlauf mehrerer Monate regelmäßig beobachtete Auftreten des Influenzabazillus eine auf einer Verschiedenartigkeit des Materials beruhende Zufälligkeit sein, die etwa in einem endemischen Auftreten des Influenzabazillus im Bezirke St. Georg begründet wäre? Aber auch dann hätte doch bei dem monatelangen Vorhandensein von Influenzabazillen im Bezirke St. Georg bei zahlreichen Grippefällen eine Uebertragung dieses Keimes auf den benachbarten Bezirk Barmbeck stattfinden, sich in dem Untersuchungsmaterial von Grätz zeigen und in seinen Befunden ausdrücken müssen; gibt doch auch Grätz die Möglichkeit der Uebertragung der Pneumokokken und Streptokokken durch Tröpfcheninjektion von Mensch auf Mensch zu! Die Auffassung von Grätz könnte zwar — in einem seiner Ansicht allerdings entgegengesetzten Sinne bei negativen Befunden solcher Untersucher Anwendung finden, die nach Untersuchung weniger Fälle zu negativen oder spärlichen positiven Befunden und dementsprechend zu einer Ablehnung der ätiologischen Bedeutung des Influenzabazillus gelangen. Hier könnte es sich tatsächlich um Eigentümlichkeiten des Materials handeln, in dem zufällig schwere eitrige Einschmelzungsprozesse innerhalb des Lungengewebes Komplikationen, hervorgerufen durch massenhaftes Auftreten von Streptokokken mit Ueberwucherung der Influenzabazillen, in einer Serie vorgelegen hätten. Gerade das gleichmäßige Vorkommen bei einem großen Material läßt aber die im Untersuchungsmaterial gelegenen Zufälligkeiten ausschließen. Der Umstand endlich, daß der Nachweis der Influenzabazillen, wenn überhaupt, doch nicht bei allen Fällen, beispielsweise nur bei 75 Proz. gelingt, ist durchaus verständlich, wenn man bedenkt, daß auch bei anderen Infektionskrankheiten, z. B. beim Typhus oder gar bei der Ruhr, aus dem Stuhl fast nie mit einer Ausbeute von 100 Proz. positiver Bazillenbefunde gerechnet werden kann; er ist erklärlich, wenn man die mehrfach hervorgehobene Labilität des Influenzabazillus, seine Launenhaftigkeit, wie Dietrich in bezeichnender Weise diese Eigenschaft nennt, seine großen Ansprüche an das Nährsubstrat berücksichtigt, die unter Umständen zu einem gänzlichen Mißerfolg der Untersuchung führen können. Fromme empfiehlt für Untersuchungen des Auswurfs, die im allgemeinen ungünstigere Resultate ergeben als die direkte Untersuchung des Bronchialsekrets, die schon beim Keuchhusten mit Erfolg verwendete sogenannte Hustenplatte. Er stellte fest, daß, wenn man die Kranken auf Blutagar kräftig aushusten läßt, häufiger positive Ergebnisse erzielt werden konnten, als bei der Untersuchung von Rachenabstrichen oder von Sputum. Vermutlich würde sich der gerade bei Sputumuntersuchung häufige ungünstige Untersuchungsausfall, z. B. auch der von Schottmüller mitgeteilte, durch Benutzung der Hustenplatte, die die Schädigungen, denen der Influenzabazillus im Sputum zweifellos ausgesetzt ist, verhindert, vermeiden lassen. Letzten Endes beweisen — auch bei der Influenza — negative Ergebnisse nichts gegenüber positiven.

Ueber das Vorkommen des Influenzabazillus bei der Pandemie 1918/19 können, wie aus alledem hervorgeht, Zweifel nicht bestehen, ebensowenig über seine Bedeutung. Es fragt sich nur, ob seine Rolle die eines Sekundärerregers, ähnlich den Streptokokken, Pneumokokken usw., ist, oder ob er auch als Primärerreger in Betracht kommt. Hervorzuheben ist seine Lokalisation im Lungengewebe, sein Ueberwiegen über die Begleitbakterien, ja sein Vorkommen in Reinkulturen gerade an frischen Stellen im Bereich der feineren Bronchien, sein Fehlen in Eiterherden, wo Staphylokokken, Streptokokken und Pneumokokken vorherrschen, sein Vorkommen endlich gerade bei Fällen mit reinen Pneumonien. Dietrich konnte ähnliche Befunde erheben. Auch ihm gelang gerade an den Orten der pneumonischen Lunge, wo die Infektion die frischesten und bezeichnendsten Erscheinungen bot, der Nachweis der Influenzabazillen. Je vorgeschrittener die Erscheinungen waren, um so überwiegender traten die Begleitbakterien auf. Er sieht diese Lagerungsverhältnisse als Hinweis darauf an, daß die Influenzabazillen gleichsam die Pioniere sind, die den Angriff einleiten, den ersten Widerstand der Gewebe überwinden, um den Streptokokken und Pneumokokken freie Bahn zur Entfaltung ihrer schädlichen Einwirkung zu schaffen. Eine ähnliche Auffassung hat auch Herzog, der gleichfalls in Bezirken mit abszedierender lobulärer, bzw. interstitieller Pneumonie, oder sonst schwer verändertem Gewebe lediglich Kokken sah, während sich in anderen, besser erhaltenen Teilen im Inhalt von Bronchien oder Bronchiolen Influenzabazillen mitunter vorwiegend nachweisen ließen. Diese Lagerungsverhältnisse gestatten also nicht, den Influenzabazillus den Streptokokken und Pneumokokken als Sekundärerreger an die Seite zu stellen. Sie lassen sich vielmehr als Ausdruck dafür ansehen, daß er unter Umständen schon vor diesen im Gewebe vorhanden sein und möglicherweise Veränderungen dort hervorrufen kann, die diesen als Sekundärerregern anerkannten Keimen das Eindringen erleichtern.

Nun wurde verschiedentlich (z. B. Schottmüller, Rumpel, Grätz) das Vorkommen des Influenzabazillus auch außerhalb der Epidemie und bei Erkrankungen, die nicht mit der Grippe im Zusammenhang standen, als gegen die Bedeutung des Influenzabazillus als Erreger sprechend angeführt. Es ist richtig, daß der Influenzabazillus nicht nur während der Pandemie, sondern auch bei Diphtherie, Masern, Keuchhusten bei chronischen Lungenkrankheiten, namentlich Bronchiektasien und Lungentuberkulose (Klieneberger, Kerschensteiner, Süßwein, Liebscher, Biele, Jochmann) gelegentlich aufgefunden wurde, und es ist durchaus zutreffend, wenn Schottmüller — zwar nur an dieser Stelle — betont, daß negative Befunde gegenüber positiven nichts beweisen.

Wo sind aber die Ursprünge einer neu ausbrechenden Grippepandemie zu suchen? Unsere epidemiologischen Erfahrungen deuten mit aller Bestimmtheit darauf hin, daß der Erreger der Grippe infolge seiner Empfindlichkeit außerhalb des menschlichen Organismus zugrunde geht, und daß deshalb eine Uebertragung der Grippe nur direkt von Mensch auf Mensch erfolgen kann. Man wird also auch nicht umhin können, anzunehmen, daß die Quelle der Pandemie, der den Erreger beherbergende Mensch sein muß. Nun kennen wir zwischen den Pandemien nirgends endemische Herde, deren Krankheitsfälle die eigentümlichen Symptome aufzuweisen hätten, die in ihrer Schwere, dem gehäuften Auftreten pseudomembranöser Entzündungen der Luftwege unter Neigung zu infiltrativen Prozessen der Lunge, zahlreiche Fälle der Pandemie charakterisieren. Die Pandemie erlöscht nach allmählichem Abklingen scheinbar völlig. Als die Grippe dieses Mal nach Dezennien wieder auftrat, galt sie überall zunächst als neue Krankheit, an die nur die älteren Aerzte sich erinnerten. Und doch konnte der Erreger nicht gleichzeitig völlig verschwunden sein. Er mußte, da die Annahme einer

Dauerform außerhalb des Menschen, die nur nach Jahrzehnten zu neuem Leben erwacht, zum mindesten unwahrscheinlich ist, und da sich für die Uebertragung durch Tiere keine Anhaltspunkte finden, in irgendwelchen Menschen oder in der Passage von Mensch zu Mensch das Intervall zwischen den Pandemien überdauern. Was liegt also näher, als im Gegensatz zu einer neuerdings mehrfach verfochtenen Anschauung, die jeden Zusammenhang zwischen epidemischer und endemischer Influenza leugnet, in Fällen der sporadischen und endemischen Influenza, die zwar keine so schweren, aber doch gleichfalls bei zahlreichen Erkrankungen während der Pandemie vorhandenen Symptome aufzuweisen haben, ferner auch in Dauerausscheidern und Bazillenträgern die Träger des Grippeerregers zu vermuten, von denen aus die neu entstehende Pandemie ihren Ausgang nimmt. Es fragt sich nur, welche Ursachen zu jenem Wechsel in der Schwere und Ausbreitung der Grippe führen, der die eigentümlichen Erscheinungen der entstehenden und erlöschenden Pandemien hervorruft. Wenn auch die Tatsache der geringen Grippemorbidität der höheren Altersklassen während der letzten Pandemie auffallend ist, so ist es doch unwahrscheinlich, daß lediglich Immunitätsvorgänge das Kommen und Gehen der Pandemien verursachen, weil ja gerade nach den Erfahrungen dieser Pandemie das ein- oder mehrmalige Ueberstehen durchaus nicht vor einer neuen Infektion zu schützen braucht und die Erwerbung einer Immunität daher, wenigstens in vielen Fällen, zweifelhaft erscheinen muß. Erklärlicher werden die Vorgänge, wenn man ein Schwanken der Virulenz des Erregers annimmt, dessen tiefere Ursachen allerdings unserer Erkenntnis noch verborgen sein würden. Die Bedeutung der Sekundärinfektion für die Schwere des Krankheitsbildes soll dabei nicht bezweifelt werden. Auch Abnahme und Steigerung der Virulenz wäre dann das Abklingen der Pandemie, die Abnahme der Zahl und der Schwere der Fälle, der veränderte Ausdruck der Krankheit, die endlich unter dem Bilde der endemischen Influenza möglicherweise sogar einer einfachen Bronchitis und Bronchopneumonie auftritt, das gelegentliche Aufflackern örtlicher Endemien zurückzuführen, deren Höhepunkt schließlich unter günstigen Verhältnissen und in bestimmten Gegenden den Ausgang der neuen Pandemie darstellen würde. Ueberblickt man die aus diesen Ueberlegungen sich ergebenden Möglichkeiten der Verbreitung des Grippeerregers und vergleicht man sie mit dem Vorkommen des Influenzabazillus, so wird man einen weitgehenden Parallelismus konstatieren können. Da wir ein Persistieren des Erregers annehmen müssen, spricht das Vorkommen des Influenzabazillus außerhalb der Pandemie bei chronischen Lungenkrankheiten und sonstigen Erkrankungen (s. oben), namentlich bei Fällen der endemischen Influenza (vgl. Scheller, Levinthal und besonders Hübschmann) nicht nur nicht gegen seine Bedeutung als Erreger, sondern es ist eine solche Verbreitung von dem Erreger ja sogar geradezu zu fordern. Von den angeführten Gesichtspunkten aus erfüllt der Influenzabazillus in epidemiologischer Hinsicht alle Anforderungen, die an den Erreger gestellt werden könnten, und es können daher die gerade unter Hinweis auf die Epidemiologie erhobenen Einwände gegen seine Bedeutung als Primärerreger nicht als begründet angesehen werden.

Weitere systematisch und unparteiisch bei den verschiedensten Erkrankungen durchgeführte Untersuchungen über die Verbreitung des Influenzabazillus werden der Aufklärung über Epidemiologie der Grippe und Bedeutung des Influenzabazillus außerordentlich dienen können. Am Schlusse dieser Mitteilung seien noch einige Untersuchungen mitgeteilt, die zur Klärung der Frage nach einem filtrierbaren Grippeerreger und durch ihren Ausfall auch zur Erhärtung des eben dargelegten Standpunktes beitragen dürften.

5. Untersuchungen über den filtrierbaren Grippeerreger.

Das von vielen Seiten gemeldete Fehlschlagen der Bemühungen, einen einheitlichen bazillären Erreger der Grippe festzustellen, verschiedene Eigentümlichkeiten des Krankheitsverlaufs, die zum Vergleich mit Masern, Pocken usw. Veranlassung gaben, die außerordentliche Ansteckungsfähigkeit ließen eine Reihe von Autoren den Gedanken aussprechen, daß ein filtrierbares Virus als Ursache der Grippe anzunehmen sei (Hirschbruch, Rimpau, Kruse, Rumpel u. a.). Von mehreren Untersuchern wurde auch über Züchtung eines filtrierbaren Erregers und über Infektionsversuche am Menschen und Affen berichtet.

In Deutschland stellte zuerst Selter an sich selbst und einer Mitarbeiterin Infektionsversuche an, indem er abgetupftes, in Kochsalzlösung ausgeschütteltes und durch Berkefeld-Kerze filtriertes Rachensekret von 5 Grippepatienten versprayte und einatmete, bzw. einatmen ließ. Bei Selter zeigten sich am Tage nach der Inhalation Schnupfen und Kopfschmerzen von 1-tägiger Dauer, bei der 2. Versuchsperson Kopfschmerzen, große Mattigkeit, leichte Temperaturerhöhung bis 37,6°, dann im weiteren Verlauf ein Schüttelfrost (Temperatur nicht angegeben), endlich Gliederschmerzen, die einige Tage währten.

Binder und Prell sahen in Karbolfuchsinpräparaten von Lungenschnitten in größeren Gruppen angeordnete, rundliche oder unregelmäßig gestaltete, homogen erscheinende Gebilde von wechselnder Korngröße und von einem helleren Hof umgeben, in der Mehrzahl der Fälle um die Gefäße gelagert, die sie als spezifisch für Grippe hielten, zu den Chlamydozoen rechneten und als Aenigmoplasma influenzae bezeichneten. In Bluttraubenzuckerbouillonkulturen sah Prell eine Trübung des Kulturmediums, die sich im hängenden Tropfen als durch massenhaft feine, in wilder Molekularbewegung befindliche Aenigmoplasmen hervorgerufen zeigte. Er bezeichnete diese Körperchen als Grippeerreger und hielt ihren Nachweis zugleich als wichtiges Hilfsmittel für die Influenzadiagnose, da er bei klinisch sicheren Influenzafällen fast stets gelang.

v. Angerer beimpfte mit keimfrei filtriertem Blut von Ratten, die mit Grippesputum gespritzt waren, Traubenzuckerbouillon, in der nach 2-tägiger Bebrütung Opaleszenz des Nährbodens und im hängenden Tropfen eine sehr große Zahl kleinster, vereinzelt auch größerer, stark lichtbrechender, lebhaft molekularbeweglicher, deutliche Vermehrung zeigende Teilchen auftraten. Auch im filtrierten Blut- und Lungensaft von frischen Grippefällen zeigten sich in reichlichster Menge dieselben Körperchen, deren Färbung mittels protrahierter Fuchsinfärbung gelang. In der normalen Ratte, wie auch im direkt untersuchten Sputum, ließen sie sich dagegen nicht nachweisen. Diese als Erreger bezeichneten Gebilde stellten nach der Ansicht v. Angerers möglicherweise den eigentlichen Grippeerreger dar.

Leschke filtrierte Bronchialsekret und Lungensaft von Grippefällen durch ein bakteriendichtes Filter. Bebrütetes Filtrat wies nach 2 Tagen kleinste, runde Körperchen auf, die starke Molekularbewegung zeigten und sich mit konzentriertem Karbolfuchsin unter Erwärmen färben ließen. Eine Fortzüchtung in weiteren Generationen gelang nicht. Nach einer ganzen Reihe von vergeblichen Versuchen, eine Infektion durch Einreiben in die Rachenschleimhaut und Inhalation des Filtrats bei sich selbst und Nahestehenden hervorzurufen, traten endlich typische Erscheinungen nach Einatmung von filtriertem und mehrtägig bebrütetem Lungensaft auf, nach der Auffassung Leschkes als Beweis dafür, daß es mit einem aus Sputum oder Lungensaft von Grippekranken gezüchteten, filtrierbaren Virus gelingt, die Krankheit in typischer Weise zu übertragen.

Was zunächst die zitierten Infektionsversuche am Menschen betrifft, so wurde auch von anderen Seiten auf die geringe Beweiskraft hingewiesen, die derartige Versuche immer haben, wenn sie ohne besondere Vorsichtsmaßregeln zur Zeit der großen Epidemie mit ihren vielen Infektionsmöglichkeiten angestellt werden. Dieser Einwand ist besonders dann berechtigt, wenn Infektionsversuche eine ganze Zeitlang ohne Erfolg ausgeführt und so lange ausgedehnt werden, bis sie endlich doch positiv ausfallen, d. h. vermutlich, bis die Versuchspersonen sich ihre Influenza auf regelrechtem Wege zugezogen haben, eine Möglichkeit, die bei den Leschkeschen Versuchen auf der Hand liegt. Bei den Selterschen Versuchen sind für Grippe typische Erscheinungen außerdem nicht aufgetreten. Bei Selter selbst handelte es sich um einen leichten, 1-tägigen Schnupfen, bei seiner Mitarbeiterin waren subjektive Beschwerden vorherrschend, deren organischer Charakter durch eine Temperaturerhöhung auf 37,6 und einen Schüttelfrost, bei dem die Temperatur anscheinend nicht gemessen wurde, nicht als bewiesen angesehen werden kann.

Die Binderschen Befunde von eigentümlichen Körnchen in den Saftspalten der Lunge konnten weder von Paschen noch von Simmonds bestätigt werden. Die zitierten Züchtungsversuche haben in keiner Weise den Beweis erbracht, daß die aus Blut oder bluthaltigem Material, wie Lungensaft und Bronchialsekret, gewonnenen Körperchen tatsächlich Lebewesen und Erreger sind, wie das von Angerer, Binder und Prell, Leschke ohne weiteres annehmen. Bei der Nachprüfung dieser Züchtungsversuche konnte ich feststellen, daß wohl im Blut und in Bluttraubenzuckerbouillongemischen von Grippefällen nach der Bebrütung bei 37° massenhaft feinste, zum Teil auch größere, in lebhafter Molekularbewegung befindliche Körperchen entstehen, die scheinbare Vermehrung zeigen, daß diese Gebilde aber in jedem Blut, auch im normalen Menschenblut, Tierblut und bluthaltigem Material und Normalblut-Traubenzuckerbouillongemischen, auftreten. Daß es sich dabei nicht um Lebewesen der vermuteten Art handeln konnte, ging daraus hervor, daß sie auch auftraten, und zwar sogar besonders reichlich, wenn Blut und Bluttraubenzuckerbouillongemische, statt bei 37°, während des ganzen Versuchs bei 56° oder vor der Bebrütung bei 37° $^1/_2$ oder 1 Std. bei 56° gehalten wurden. In Uebereinstimmung mit den Feststellungen von Leschke, v. Angerer, Binder und Prell erwiesen sich die so gewonnenen Körnchen als schwer färbbar; ihre Färbung gelang am besten nach der von Paschen für die Darstellung der Pockenkörperchen angegebenen Methode. Es zeigten sich dabei zahlreiche allerfeinste, daneben aber auch in allen Uebergängen größere, z. T. schollenartige Gebilde von gleichartiger Färbung. Vermutlich handelt es sich um Elemente, die aus den Erythrozyten entstehen, wahrscheinlich um dieselben Granula normaler Erythrozyten, die neuerdings Kronberger beschrieben hat.

Kürzlich gibt nun Prell zu, daß die Spezifität der Aenigmoplasmen, die ihm Anfangs sicher erschien, durch neuere Versuche stark in Frage gestellt wurde.

Es ergaben nämlich später auch von ihm angestellte Blutuntersuchungen von nicht an Grippe Erkrankten ähnliche Resultate. Er läßt daher die Frage offen, ob die auftretenden Körnchen z. T. als die Grippeerreger anzusprechen sind. Auch die neuerdings von ihm so formulierte Behauptung, daß die genannten Körperchen bei der Grippe häufiger anzutreffen seien, als bei nicht Erkrankten, kann ich nicht bestätigen, da sie in jedem Blut bei richtiger Behandlung nachweisbar sind.

Ueber die letzthin mitgeteilten Versuche von v. Fejes, der mit Filtraten aus Sputum von Influenzapneumoniekranken bei Affen nach subkutaner Injektion eine hämorrhagische Sepsis (ohne Lungenerscheinungen) hervorrufen konnte, wird sich ein Urteil erst nach anderweitiger Nachprüfung fällen lassen. Gegenüber den anderen ausländischen Untersuchungen, namentlich den von den Franzosen gemeldeten über dieses Thema, sind die gleichen, eben angeführten Bedenken geltend zu machen. Erwähnt sei schließlich noch gegenüber der Auffassung, die wegen der großen Ansteckungsfähigkeit des Grippeerregers ein filtrierbares Virus annimmt, also aus der Infektiosität auf die Größe des Erregers Schlüsse ziehen will, einmal daß der Influenzabazillen der kleinste bazilläre Erreger ist, den wir kennen, dann aber ist die außerordentliche Ausbreitung der Grippe außerdem durchaus erklärlich, wenn man bedenkt, daß, im Gegensatz zu anderen Seuchen, z. B. der Pest und den Pocken, bei der Grippe nur ein verhältnismäßig geringer Teil der Erkrankten ans Lager gebunden ist, die übrigen aber während der ganzen Dauer oder eines Teils der Krankheit imstande sind, sich frei unter Menschen zu bewegen, und überall den Keim zu verbreiten, eine Ansicht, die schon Haygarth ausspricht (zit. bei Bäumler). Es läßt sich also nicht bestreiten, daß die Annahme eines filtrierbaren Grippeerregers durch die bisher darüber veröffentlichten Untersuchungen nicht gerechtfertigt erscheint.

Literatur.

v. Angerer, München. med. Wochenschr. 1918. Nr. 46 u. 48. — Bäumler, l. c. 1894. Nr. 9. — v. Bergmann, Deutsch. med. Wochenschr. 1918. Nr. 34. — Bernhardt, Med. Klin. 1918. Nr. 28. — Bernhard-Meyer, Berlin. klin. Wochenschr. 1918. Nr. 33. — Binder u. Prell, München. med. Wochenschr. 1918. Nr. 50 u. 52. — Benda, Berlin. klin. Wochenschr. 1918. Nr. 31. — Deussing, Med. Klin. 1918. Nr. 39. — Ernst Fränkel, Deutsch. med. Wochenschr. 1918. Nr. 51. — Eugen Fränkel, l. c. 1919. Nr. 14. — Friedemann, l. c. 1918. Nr. 29. — Friedberger u. Konitzer, Med. Klin. 1919. — Fromme, Deutsch. med. Wochenschr. 1918. Nr. 51. — v. Fejes, l. c. 1919. Nr. 24. — Gotschlich, l. c. 1918. Nr. 30. — Graetz, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 88. H. 3. — Graßberger, l. c. Bd. 25. 1897.; Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 18. 1898. — Hesse, München. med. Wochenschr. 1918. Nr. 30 — Herzog, l. c. 1919. Nr. 5. — Hirschbruch, Deutsch. med. Wochenschr. 1918. Nr. 34. — v. Hößlin, München. med. Wochenschr. 1918. Nr. 41. — Hübschmann, l. c. 1915. Nr. 32. — Jochmann, Deutsch. Arch. f. klin. Med. Bd. 84. 1906. — Kerschensteiner, l. c. Bd. 75. — Klemperer, Wien. klin. Wochenschr. 1918. Nr. 34. — Klieneberger, D. Arch. f. klin. Med. Bd. 87. 1906. — Köpchen, Deutsch. med. Wochenschr. 1918. Nr. 34. — Kolle, l. c. 1918. Nr. 29. — Kobsch, Med. Klin. 1918. Nr. 3. — Kronberger, Deutsch. med. Wochenschr. 1919. Nr. 9. — Kruse, Münch. med. Wochenschr. 1918. Nr. 44. — Leichtentritt, Deutsch. med. Wochenschr. 1918. Nr. 51. — Levinthal, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 86. — Leschte, Deutsch. med. Wochenschr. 1919. Nr. 1. — Liebscher, Prag. med. Wochenschr. 1903. Nr. 21. — Lubarsch, Berlin. ärztl. Ges. 17. 7. 1918. — Mahlo, Deutsch. med. Wochenschr. 1919. Nr. 14. — Mandelbaum, München. med. Wochenschr. 1918. Nr. 30. — Messerschmidt, Hundeshagen u. Scheer, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 88. 1919. Heft 3. — Neufeld u. Papamarku, Berlin. klin. Wochenschr. 1919. Nr. 7. — Nocht, ärztl. Ver. Hamburg 1919. — Oberndorffer, München. med. Wochenschr. 1918. Nr. 30. — Oeller, l. c. 44. 1918. — Olsen, l. c. 1919. — R. Pfeiffer, Deutsch. med. Wochenschr. 1918. Nr. 28; Med. Klin. 1919. Nr. 3. — Prell, München. med.

Wochenschr. 1919. Nr. 38. — Rumpel, ärztl. Ver. Hamburg, November 1918. — Scheller, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 50. 1909; Kolle-Wassermann. — Schiemann, Med. Klin. 1918. Nr. 39. — Schmorl, Deutsch. med. Wochenschr. 1918. Nr. 34. — Schöppler, München. med. Wochenschr. 1918. Nr. 32. — Schottmüller, l. c. 1919. Nr. 14. — Selter, l. c. 1918. Nr. 34; 1919. Nr. 14. — Simmonds, München. Med. Wochenschr. 1918. Nr. 32. — Süßwein, Deutsch. med. Wochenschr. 1918. Nr. 30. — Schürmann, Sobernheim u. Novaković, München. med. Wochenschr. 1918. Nr. 49. — Uhlenhuth, Deutsch. med. Wochenschr. 1918. Nr. 28; Med. Klin. 1918. 32. — Voges, Berl. klin. Wochenschr. 1894. Nr. 38. — Zeißler, Deutsch. med. Wochenschr. 1919. Nr. 16.

Nachdruck verboten.

Vergleichende Untersuchungen über die Methoden von Herman und von Ziehl-Neelsen zur Färbung von Tuberkelbazillen.

[Aus dem Nationalforeningens Sanatorium zu Skørping (Dänemark)
(Direktor: Hj. Eiken).]

Von **Elisabeth Kongsted.**

Obgleich die Ziehl-Neelsensche Färbemethode die am meisten angewandte ist, wird doch die von Herman von mehreren Forschern als die bessere empfohlen. Wir unternahmen daher vergleichende Versuche im Sanatorium zu Skørping.

Herman beschreibt seine Methode in den Ann. de l'Inst. Pasteur. 1889. p. 160 folgendermaßen: Die Färbeflüssigkeit besteht aus 2 Lösungen, Kristallviolett 1 g, Alkohol 95-proz. 60 ccm, 2) Ammon. carb. 1 g, Aqua dest. 100 ccm. Zu einer gewissen Menge der Ammoniumkarbonatlösung wird so viel Kristallviolettlösung zugesetzt, bis ein Tropfen der Mischung auf dem Filtrierpapier einen sehr dunklen Fleck hervorbringt. Die gemischten Flüssigkeiten werden bis zum Sieden erwärmt und während des Färbens bei dieser Temperatur gehalten. Das Präparat wird 1 Min. oder länger in die heiße Flüssigkeit gebracht, dann 4—5 Sek. durch Salpetersäure und schließlich durch 95-proz. Aethylalkohol entfärbt. Herman selbst verwendet keine Nachfärbung, empfiehlt aber, falls eine solche gewünscht werden sollte, das Präparat 1/2 Min. in eine Lösung von 1 g Eosin in 100 ccm 60-proz. Aethylalkohol zu bringen.

Später (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1908. p. 92) empfiehlt Herman eine Mischung von 1 Teil 3-proz. Kristallviolettlösung in 95-proz. Aethylalkohol und 3 Teilen 1-proz. wässeriger Ammoniumkarbonatlösung. Man tröpfelt 6—8 Tropfen auf das Präparat, worauf 1 Min. bis zum Sieden erhitzt und einige Sekunden durch 10-proz. Salpetersäure entfärbt und nachher durch 95-proz. Aethylalkohol eine blaßblaue Farbe erzielt wird. Diese Lösung muß für jede Färbung frisch gemischt werden. Zur Nachfärbung wird 1-proz. wässerige Eosinlösung verwendet.

H. Naegeli, Akerblom und P. Vernier (Ther. Monatsh. 1909. S. 212, ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Refer. Bd. 46. S. 137) teilen mit, daß mit Färbung von Herman Tuberkelbazillen nachgewiesen werden können, wo dies nach Ziehl und Much nicht gelingt.

Joh. Adam (Inaug.-Diss. Leipzig 1910) wendet eine 5-proz. Kristallviolettlösung an (falls diese Angabe nicht auf einem Druckfehler beruht) und hat besonders bei Schnittpräparaten hierdurch bessere Resultate erreicht als mit der Ziehl-Neelsenschen Färbung. Jedesmal eine frische Mischung herzustellen, ist freilich lästig; doch hält sich eine solche 3 Wochen lang, ohne ihre Färbekraft zu verlieren. Ueberdies entschädigt das gute Resultat für die aufgewandte Mühe reichlich.

Albert Caan (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 49. S. 637) hat bei den nach Herman gefärbten Präparaten 5—6mal mehr Tuberkelbazillen nachgewiesen, als bei den nach Ziehl-Neelsen gefärbten. In mehreren Fällen ergab letztere Methode keine Tuberkelbazillen, während bei der Hermanschen eine recht große Anzahl gefunden wurde, die sich durch Färbung der Granula und granulierten Stäbchen auszeichnete.

F. Berka (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 51. S. 450) nimmt 3 Teile 1-proz. Ammoniumkarbonatlösung — 1 Teil konzentrierter alkoholischer Kristallviolettlösung (für jeden Gebrauch gut gemischt). Das Präparat ist in der Flamme zu erwärmen und nachher während weniger Sekunden durch 10-proz. Salpetersäure und nachher durch 95-proz. Aethylalkohol zur blaßblauen Farbe zu entfärben. Als Kontrastfarbe wendet er folgende Lösung an: Bismarckbraun 2 g, Alkohol, 95-proz., 60 g, Aq. dest. 40 g. Resultat: durchschnittlich 20mal so viele Tuberkelbazillen als nach Ziehl, und zwar gaben 30 Proz. der Präparate ein positives Resultat, wo die letztgenannte ein negatives zeigte. Berka bemerkt ferner, daß die Zahl der Tuberkelbazillen auch selbst bei der Methode von Herman stark variieren kann, je nach der längeren oder kürzeren Dauer des Entfärbens. Auch wenn man für beide Methoden Entfärbung mit 10-proz. Salpetersäure verwendet, wird Kristallviolett-Bismarckbraun ein besseres Resultat als Karbolfuchsin-Methylenblau geben.

Heinrich Kayser (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 55. S. 91) fand 2- bis 3- bis 10mal mehr gefärbte Tuberkelbazillen bei der Methode von Herman als bei der nach Ziehl-Neelsen. Bei ungefähr 8 Proz. der untersuchten ca. 300 Präparate konnten nur nach Herman Tuberkelbazillen nachgewiesen werden.

Nach Charles Krumwiede und Louise Blackburn (Collect. stud. fr. the Res. Labor. Departm. of Health, City of New York. Vol. 6. 1911. p. 135; ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 35. S. 530) gaben bei gewöhnlicher Laboratoriumsuntersuchung 28 Präparate negatives, 5 positives Resultat. Von diesen 28 negativen Präparaten wurden bei fernerer Untersuchung nach Herman 2, nach Ziehl nur 1 positiv befunden. Durch Antiforminbehandlung wurden in 4 Fällen nach Herman, in keinem aber nach Ziehl Tuberkelbazillen konstatiert. Bei den erstgenannten 5 positiven Präparaten wurde nach Herman eine größere Anzahl von Tuberkelbazillen gefunden als nach Ziehl-Neelsen.

G. K. H. Macalister (Brit. med. Journ. Vol. 112. 2. p. 411) hat mit 0,3-proz. Chrysoidinlösung als Kontrastfarbe an je 206 Auswürfen nach Herman und nach Ziehl-Neelsen vergleichend untersucht und mit beiden Methoden gleiche Resultate erlangt. Die Mischung der Flüssigkeiten nach Herman gibt der Methode von Ziehl-Neelsen einen kleinen Verzug. Die nach Herman gefärbten Bazillen zeigen interessantere morphologische Charaktere; manchmal metachromatische, sporenähnliche Gebilde und Verzweigung. Bei Harnuntersuchung auf Tuberkelbazillen war die Methode nach Ziehl-Neelsen besser als die nach Herman.

Wilhelm Frei (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 61. S. 411) gebraucht keine Kontrastfarbe, weil die stark violetten Tuberkelbazillen auf dem blaßblauen Boden deutlich hervortreten. Die Methode von Herman ergab häufig mehr Tuberkelbazillen als die nach Ziehl-Neelsen, niemals weniger. 1 Fall ergab Bazillen nach Herman, wogegen keine in mehreren nach Ziehl-Neelsen gefärbten Präparaten desselben Auswurfs gefunden wurden.

Johann Böhm (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 62. S. 497) entfärbt 2—5 Min. durch 10-proz. Salpetersäure und benutzt eine dünne Lösung von Safranin als Kontrastfarbe. Er hält die so gefärbten Präparate für feiner als die nach Ziehl gefärbten; auch ist die Methode langwieriger als die Ziehlsche, weil 2 Flüssigkeiten zu verwenden sind.

Während des letzten Jahres habe ich über 1200 Auswürfe nach den beiden oben genannten Färbemethoden untersucht mit dem Resultate, daß die nach Herman gefärbten Präparate feiner und bequemer zu untersuchen sind, als die nach Ziehl-Neelsen gefärbten. Wie Herman schreibt, ist seine Methode nicht langwieriger als die Ziehlsche, da die Mischung von zwei Flüssigkeiten nicht mehr Zeit erfordert, als eine zu filtrieren. Ich mache die Farbe so intensiv wie möglich, was ich dadurch erreiche, daß ich das Präparat wiederholt bis zum Sieden erwärme und es ca. 1 Min. liegen lasse, ohne die Färbeflüssigkeit zu entfernen, sowie dadurch, daß ich die Lösung in einem, von dem ursprünglich angegebenen etwas abweichenden Verhältnis nehme.

Ich verwende nämlich eine Färbeflüssigkeit, die aus 1 Teil 3-proz. Kristallviolettlösung und 2 Teilen 1-proz. Ammoniumkarbonatlösung besteht. Die Entfärbung ist möglichst schnell vorzunehmen, damit keine Tuberkelbazillen entfärbt werden. Von besonderer Bedeutung ist es, daß die Entfärbung mittels 10-proz. Salpetersäure nur wenige Sekunden dauert. Um möglichst feine Präparate zu erhalten, muß so viel Färbeflüssigkeit zugetröpfelt werden, als das Objektglas aufnehmen kann, damit sie nicht ganz verflüchtigt, was die Entfärbung erschweren und demzufolge die Präparate weniger fein machen würde. Mitunter sieht man aber doch einen Niederschlag, und in vereinzelten Fällen waren Kokken nicht völlig entfärbt.

Von den von mir untersuchten ca. 1200 Auswürfen waren 345 positiv; von diesen waren 29 nur positiv nach Herman, aber nur 8 allein nach Ziehl-Neelsen. Von den übrigen positiven Präparaten wurde in 136 Fällen bei Anwendung beider Methoden dieselbe Anzahl von Bazillen konstatiert; in 125 Fällen wurde nach Herman, in 47 nach Ziehl-Neelsen die größte Zahl festgestellt. Demzufolge gab die Methode Hermans bessere Resultate als die Ziehl-Neelsensche. Erstere ergab besonders viel mehr granulierte Stäbchen.

Ich habe verschiedene Kontrastfarben versucht, wie Bismarckbraun, Safranin, Chrysoidin, Eosin und Pikrinsäure, ziehe aber $1/2$ Proz. Eosin in alkoholischer Lösung vor, da die Präparate dadurch ein feines Aussehen erhalten; die Tuberkelbazillen erscheinen stark violett, auf schwach blaßrotem Boden. Auch eine ganz schwache, wässerige Pikrinsäurelösung ist mit Vorteil zu verwenden; die Bazillen zeigen sich dann violett auf schwach gelbem Boden; macht man die Pikrinsäurelösung zu stark, so zerstört man das deutliche Bild, indem die violette Farbe der Bazillen teilweise durch die gelbe verdeckt wird, so daß sie dann rotbraun erscheinen und sich von der stark gelben Bodenfarbe nur schwer unterscheiden lassen.

Außer den schon genannten Vorteilen der Hermanschen Methode ist noch ein solcher zu erwähnen, welcher besonders in kleineren Laboratorien, wo die Färbeflüssigkeiten nicht immer bereit sind, eine Rolle spielt, nämlich der, daß die Färbeflüssigkeiten schnell zu bereiten sind, da Kristallviolett leicht und schnell in 95-proz. Aethylalkohol gelöst wird und Ammoniumkarbonat auch in Wasser leicht lösbar ist, so daß man in 10 Min. eine verwendbare Färbeflüssigkeit herstellen kan. Will man dagegen Karbolfuchsin anwenden und ist keine Fuchsinlösung vorhanden, so wird es wenigstens mehrere Stunden dauern, bevor man eine verwendbare Färbeflüssigkeit hat, weil Fuchsin sich nur langsam in Alkohol löst. Man könnte vielleicht einwenden, daß nicht alle Bazillen, die sich nach der Hermanschen Methode färben lassen, tatsächlich Tuberkelbazillen sind, wogegen aber ihre typische Gestalt deutlich spricht. Auffällig ist es mir, daß F. Berka[1]) angibt, nach Herman 20mal mehr Bazillen gefunden zu haben, dagegen nicht, daß J. Böhm mit derselben Methode keine besseren Resultate erlangt hat, da eine 2—5 Min. lange Entfärbung durch Salpetersäure unmöglich eine gar zu große Anzahl von Bazillen entfärben kann.

---

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 51. S. 450.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Nachdruck verboten.

Experimentelle Untersuchungen über Milzbrandinfektion bei Ratten.

[Aus dem Hygiene-Institut der Universität Zürich (Direktor: Prof. Dr. W. Silberschmidt).]

Von **F. Fukuda.**

Die weiße Ratte ist nach Behring gegen Milzbrand vollständig immun; anderen Autoren ist es gelungen, sie auf verschiedene Weise mit Milzbrand zu infizieren. Nach Frank erliegt die weiße Ratte nur ausnahmsweise einer subkutanen Impfung, wird aber durch intraperitoneale mit Sicherheit getötet. Er konnte nicht eine Stelle an der äußeren Haut der weißen Ratte finden, an der nach subkutaner Impfung eine Milzbrandinfektion jedesmal mit Sicherheit zum Tode geführt hätte, und er behauptet, daß lokale Einflüsse beim Zustandekommen einer Infektion von wesentlicher Bedeutung seien. Nach Zwick stirbt die Ratte durch die subkutane Injektion oder durch die Fütterung mit Milzbrand nach 4—38 Tagen. Metschnikoff ist auch auf dieses Problem eingegangen und hat gefunden, daß die Ratte stets, wenn auch nicht der erstmaligen, so doch der wiederholten Infektion erliegt. Nach Müllers Prüfungen überlebten von weißen Ratten 14 Proz. die Milzbrandimpfung. Hall ist ungefähr gleicher Meinung wie Müller über die Infizierbarkeit der Ratte mit Milzbrand.

Aus den bisherigen Ergebnissen ist zu entnehmen, daß die Empfänglichkeit der weißen Ratte bei weitem nicht so groß ist, wie die der weißen Maus, des Meerschweinchens etc.

Ich habe zu meinen Versuchen weiße Ratten verwendet, die aus verschiedenen Ortschaften des Kantons Zürich bezogen worden waren. Ob sie alle vom gleichen Stamm sind, darüber bin ich leider nicht unterrichtet.

Der Milzbrandstamm im Institut, welcher gegen Maus, Meerschweinchen etc. virulent war, erwies sich gegen die Ratte ziemlich schwach; die subkutane Impfung von 3 Oesen bis 1 ganze Agarkultur war ohne Erfolg. Ein Tier starb einmal ausnahmsweise nach einer Einspritzung von 2 Kulturen, während die anderen am Leben blieben. Endlich konnte ich mit einer Dosis von 3 Agarkulturen die weiße Ratte regelmäßig zum Tode bringen. Nach 12 Tierpassagen wurde der Milzbrand allmählich virulenter, so daß die subkutane Injektion von 1 Oese, endlich sogar von $^1/_8$ Oese Agarkultur die weiße Ratte ausnahmslos nach 27—54 Std. tötete.

Nach der Feststellung der stets gelingenden Infizierbarkeit der Ratte mit Milzbrand habe ich mir die Aufgabe gestellt, an der Ratte die Wirkung von $CaCl_2$ auf die Milzbrandinfektion, ferner die antagonistische Wirkung von Protozoen und von Bacterium pyocyaneum gegen Milzbrand zu studieren.

Versuche mit $CaCl_2$ und Milzbrand.

Emmerich und Loew haben durch die Zufuhr von $CaCl_2$ die natürliche Resistenz gegen Infektionskrankheiten erhöht. Sie haben Meerschweinchen mehrere Monate lang mit $CaCl_2$ gefüttert und feststellen können, daß die so vorbehandelten Tiere die Milzbrandinfektion stets überstanden haben.

Unsere Versuche sollten die Frage prüfen, ob nach 1maliger Injektion von Chlorkalzium eine Aenderung der Empfindlichkeit der Versuchstiere gegen Milzbrandinfektion zu beobachten ist.

Wir haben die weiße Ratte mit $CaCl_2$-Lösung am Schwanzansatz und gleichzeitig an einer anderen benachbarten Stelle mit Milzbrandbazillen-Aufschwemmung in NaCl-Lösung injiziert. In einem Versuch wurde Chlorkalzium 14 Tage vor und zum 2. Male gleichzeitig mit Milzbrandbazillen injiziert. 3 Versuche wurden an Meerschweinchen vorgenommen; hier wurden die Injektionen am Bauche subkutan ausgeführt. Die injizierte Dosis $CaCl_2$ betrug 0,001—0,03 g in der Konzentration von 1 Prom. bis 2 Proz.

Wie aus der nachstehenden Tab. I ersichtlich, hat $CaCl_2$ schützende Wirkung gegen Milzbrandinfektion, und zwar bei Ratten und bei Meerschweinchen.

Wir haben mit sehr virulentem Material gearbeitet und im ganzen 8 Versuche an Ratten und 3 an Meerschweinchen ausgeführt. Alle Versuchstiere sind an Milzbrand gestorben. In der Mehrzahl der Fälle (6 Versuche) überlebten die mit $CaCl_2$ behandelten Tiere die Kontrollen um mehrere, bis zu 24 Std.; in 3 Fällen war kein Unterschied festzustellen und in 2 Versuchen starben die $CaCl_2$-Tiere zuerst. Leider konnten wir die Versuche nicht weiter fortsetzen. Die erhaltenen Resultate deuten immerhin darauf, daß Chlorkalzium eine verlangsamende Wirkung auf die Milzbrandinfektion ausübt.

Unsere Versuche lassen sich mit denjenigen von Emmerich und Loew, die ihre Versuchstiere viel länger mit $CaCl_2$ vorbehandelt haben, nicht vergleichen; sie wurden veranlaßt durch die Mitteilung von Bulloch und Bramer. Diese Autoren haben bei Tetanus und Gasgangrän durch Chlorkalzium eine Steigerung der Virulenz beobachtet. Nach ihnen genügen 5 mg $CaCl_2$, um Tetanussporen bei gleichzeitiger Injektion virulent zu machen.

Die Frage nach der Bedeutung der Kalziumsalze im menschlichen und tierischen Organismus beschäftigt die Physiologen, die Kliniker und die Pathologen. Sie ist so wichtig, daß sie eingehendere Würdigung beansprucht. Unsere Untersuchungen sollen nur darauf hinweisen, daß die Versuche von Bulloch und Bramer keine allgemeine Geltung für alle Krankheitserreger haben.

Versuche mit Trypanosomen und Milzbrand.

Diese Kombination von Trypanosomen- und Milzbrandinfektion ist, soweit mir bekannt, noch nicht studiert worden. Ich habe die weiße Ratte mit einigen Tropfen stark naganatrypanosomenhaltigen Blutes subkutan infiziert; der Tod an Trypanosomen trat am 6.—8. Tage ein. 3 Tage nach Injektion der Trypanosomen wurde eine Milzbrandaufschwemmung subkutan am Schwanzansatz geimpft, nachdem Trypanosomen im Blute mikroskopisch nachgewiesen waren.

Die mit Trypanosomen und mit Milzbrand infizierten Ratten lebten gewöhnlich 1 oder 2 Tage länger als die Milzbrand-Kontrolltiere. Von 6 Versuchen zeigten 4 ein übereinstimmendes Resultat; 1mal starben beide Tiere während der Nacht und nur 1mal überlebte das Kontrolltier die Trypanosomenratte.

Die Injektion mit Trypanosomen wirkt also auf den Verlauf des Milzbrandes im Rattenkörper nicht nur nicht begünstigend, sondern im Gegen-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Tabelle I. **Einwirkung des Chlorkalziums auf die Milzbrandinfektion.**

Versuchsreihe	Kontr. No.	Dosis	Art der Injektion	Injektion um 11^h a. m. am	Tod am	Kultur	Bemerkungen
			Weiße Ratte				
I	16	1 ccm 1-prom. $CaCl_2$ 3 Kult. Milzbr.	an verschiedenen Stellen inj.	29. Dez.	30.—31. Dez.	Milzbrand	
	17 (Kontr.)	3 Kult. Milzbr.			30. Dez. nachm.	"	
II	13	1 ccm 1-prom. $CaCl_2$	I. Injektion	19. Dez.			
		1 ccm 1-prom. $CaCl_2$ $2^1/_2$ Kult. Milzbrand	II. Injekt. an verschiedenen Stellen inj.	31. Dez.	1.—2. Jan.	"	Kein Unterschied
	14 (Kontr.)	$2^1/_2$ Kult. Milzbrand		31. Dez.	1.—2. Jan.	"	
III	22	1 ccm 5-prom. $CaCl_2$ 1 Kult. Milzbr.	dgl.	7. Jan.	8.—9. Jan.	"	
	23 (Kontr.)	1 " "			8. Jan. 2^h p. m.	"	
IV	25	1 ccm 5-prom. $CaCl_2$ $^1/_2$ Kult. Milzbr.	"	9. Jan.	10.—11. Jan.	"	Kein Unterschied
	26 (Kontr.)	$^1/_2$ " "			10.—11. Jan.	"	
V	28	1 ccm 5-prom. $CaCl_2$ $^1/_2$ Kult. Milzbr.	"	12. Jan.	13.—14. Jan.	"	
	29 (Kontr.)	$^1/_2$ " "			13. Jan. abends	"	
VI	35	1 ccm 1-proz. $CaCl_2$ $^1/_3$ Kult. Milzbr.	"	17. Jan.	18.—19. Jan.	"	Kein Unterschied
	36 (Kontr.)	$^1/_3$ " "			18.—19. Jan.	"	
VII	53	1,5 ccm 2-proz. $CaCl_2$ 1 Oese Milzbr.	"	29. Jan.	30. Jan. 2^h p. m.	"	Entgegengesetztes Resultat
	54 (Kontr.)	1 " "			30.—31. Jan.	"	
VIII	59	1,5 ccm 2-proz. $CaCl_2$ 1 Oese Milzbr.	"	2. Febr.	3.—4. Febr.	"	
	60 (Kontr.)	1 " "			3. Febr. 2^h p. m.	"	
			Meerschweinchen				
IX	3	1 ccm 2-proz. $CaCl_2$ $^1/_{10}$ Oese Milzbr.	an verschiedenen Stellen inj.	19. Febr.	21.—22. Febr.	Milzbrand	
	1 (Kontr.)	$^1/_{10}$ " "			20.—21. Febr.	"	
X	6	1,5 ccm 2-proz. $CaCl_2$ $^1/_{10}$ Oese Milzbr.	"	21. Febr.	23.—24. Febr.	"	
	4 (Kontr.)	$^1/_{10}$ " "			23. Febr. 1^h p. m.	"	
XI	8	1,5 ccm 2-proz. $CaCl_2$ $^1/_{50}$ Oese Milzbr.	"	23. Febr.	25.—26. Febr.	"	Entgegengesetztes Resultat
	9	1,5 ccm 2-proz. $CaCl_2$ $^1/_{50}$ Oese Milzbr.	3 Std. nach d. Mischung inj.		26.—27. Febr.	"	
	7 (Kontr.)	$^1/_{50}$ " "			26. Febr. 3^h p. m.	"	

teil verlangsamend. Eine bestimmte Erklärung für dieses auffallende Verhalten kann ich nicht geben. Es handelt sich nicht um eine eigentliche antagonistische Wirkung, denn bei der Sektion lassen sich bei den Trypanosomentieren so massenhaft Milzbrandbazillen nachweisen wie bei den Kontrollen. Der Verlauf des Milzbrandes wird durch die Trypanosomeninfektion verlangsamt; das Umgekehrte konnten wir aber nicht beobachten; in keinem einzigen Fall ist es uns gelungen, durch Injektion von Milzbrandbazillen den Verlauf der Trypanosomeninfektion bei Ratten zu beeinflussen.

Tabelle II.

Mischinfektion von Milzbrandbazillen und Trypanosomen.

Versuchsreihe	No.	Geimpft mit Trypanosomen	Geimpft mit Milzbr. 11 Uhr	Dosis des Milzbr.	Tod	Kultur	Befund des Herzblutes	Bemerkungen
Weiße Ratte.								
I	21	5. Jan.	8. Jan.	1 Kultur	9.—10. Jan.	rein Milzbr.	sehr viele Trypanos. und Milzbr.	Eigentliche Kontrolle fehlt
	23	5. Jan.	7. Jan.	dgl.	8. Jan.	dgl.		
II	42	20. Jan.	22. Jan.	3 Oesen	24.—25. Jan.	„	dgl.	
	46	Kontr.		dgl.	23. Jan.	„		
III	43	20. Jan.	22. Jan.	6 Oesen	24.—25. Jan.	„	„	
	47	Kontr.		dgl.	23. Jan.	„		
IV	49	26. Jan.	28. Jan.	1 Oese	29. Jan.	„	„	Entgegenges. Result.
	52	Kontr.		dgl.	29.—30. Jan.	„		
V	55	31. Jan.	2. Febr.	1 Oese	3.—4. Febr.	„	„	
	60	Kontr.		dgl.	3.—4. Febr. 2 Uhr nachm.	„		
VI	61	4. Febr.	7. Febr.	1 Oese	8.—9. Febr.	„	„	Kein Unterschied
	65	Kontr.		dgl.	8.—9. Febr.	„		

Versuche mit Bact. pyocyaneum und Milzbrand.

Emmerich und Loew haben die interessante antagonistische Wirkung von Bact. pyocyaneum gegenüber Milzbrandbazillen im Tierkörper nachgewiesen; auf Grund ihrer Versuche haben sie unter dem Namen Pyocyanase ein aus Kulturen der genannten Mikroorganismen gewonnenes Präparat hergestellt, das auch gegen Diphtherie, Meningokokken und andere Infektionskrankheiten empfohlen wurde.

Emmerich und Loew haben ihre Versuche an Kaninchen und an Meerschweinchen ausgeführt; ich habe ähnliche Versuche an Ratten vorgenommen, um festzustellen, ob diese Tiere sich ähnlich verhalten wie Meerschweinchen und Kaninchen. Es wurden frische Kulturen von Milzbrand- und von Pyocyaneum-Bakterien in Kochsalz aufgeschwemmt und gemischt oder getrennt subkutan injiziert. Die mit beiden Bakterien zugleich infizierten Tiere lebten mehrere Stunden bis 2 Tage länger als die Milzbrand-Kontrolltiere, mit einer Ausnahme, wo das Kontrolltier mehr als 10 Std. später erlag.

Die Kultur vom Herzblut der gleichzeitig mit Pyocyaneum und mit Milzbrand infizierten Tiere hat sich 3mal als steril erwiesen, 3mal wurden reine Milzbrand- und 1mal spärliche Kolonien von Pyocya-

neum beobachtet. Die Tiere gingen stets zugrunde, selbst in den Fällen, wo das Herzblut sich kulturell als steril erwiesen hat.

In 2 Versuchen an Meerschweinchen konnte die antagonistische Wirkung des **Bact. pyocyaneum** ebenfalls festgestellt werden, und im Blute beider Tiere waren, im Gegensatz zu den Kontrolltieren, Milzbrandbazillen nicht nachweisbar.

In unseren Versuchen ist es uns nicht gelungen, Ratten oder Meerschweinchen zu retten; bekanntlich haben **Emmerich** und **Loew** Heilungen mittels Pyocyanase beobachtet. Dies hängt wohl von den verwendeten Kulturen und von der Dosierung ab. Die antagonistische Wirkung des **Bacterium pyocyaneum** gegen Milzbrandbazillen in vivo konnte ich aber bestätigen.

Tabelle III.

Mischinfektion mtt Milzbrand und Bacterium pyocyaneum.

Versuchsreihe	No.	Dosis	Art der Injekt.	Injekt. um 11 Uhr	Tod	Kultur aus Herzblut	Bemerkungen
		Weiße Ratte.					
I	57	1 Oese Pyocyan. 1 „ „ 1 Oese Milzbr.	an versch. Stellen	31. Jan. 4. Febr.	8.—9. Febr.	rein Milzbr.	
II	63	1 Oese Pyocyan. 1 „ Milzbr.	dgl.	6. Febr.	7.—8. Febr.	dgl.	
	64	1 „ „	Kontr.		7. Febr. 4^h nachm.	„	
III	68	1 Oese Milzbr. 1 „ Pyocyan.	„	9. Febr.	10.—11. Febr.	„	
	69	1 „ Milzbr.	Kontr.		10. Febr. 4^h nachm.	„	
IV	71	1 Oese Pyocyan. 1 „ Milzbr.	gleich nach der Misch.	12. Febr.	13. Febr. 6^h nachm.	steril	
	70	1 „ „	Kontr.		13. Febr. 2^h nachm.	rein Milzbr.	
V	76	3 Oesen Pyocyan. 1 Oese Milzbr.	„	14. Febr.	15.—16. Febr.	steril	Entgegengesetztes Resultat
	75	1 „ „	Kontr.		16. Febr. 5^h nachm.	rein Milzbr.	
		Meerschweinchen.					
VI	2	1 Oese Pyocyan. $^{1}/_{10}$ Oese Milzbr.	gleich nach der Misch.	19. Febr.	23. Febr. 10^h morg.	einige Kolon. v. Pyocyan.	
	1	$^{1}/_{10}$ „ „	Kontr.		20.—21. Febr.	rein Milzbr.	
VII	5	1 Oese Pyocyan. $^{1}/_{10}$ Oese Milzbr.	dgl.	21. Febr.	24. Febr. 6^h nachm.	steril	
	4	$^{1}/_{10}$ Oese Milzbr.	Kontr.		23. Febr. 1^h nachm.	rein Milzbr.	

Schlußfolgerungen.

1) Es ist uns gelungen, nach wenigen Tierpassagen die Virulenz einer Kultur von Milzbrandbazillen für weiße Ratten, die wir aus verschiedenen Orten des Kantons Zürich bezogen hatten, derart zu steigern, daß die subkutane Einspritzung von 1 Oese, mitunter $^{1}/_{3}$ Oese, regelmäßig nach 27—54 Std. zum Tode führte.

2) Chlorkalzium, in Mengen von 0,001—0,03 g gleichzeitig mit Milzbrand injiziert, verursacht in der Regel eine Verlangsamung des Krankheitsverlaufes.

3) Mit Nagana-Trypanosomen infizierte Ratten, die nachträglich mit einer großen Dosis Milzbrandbazillen infiziert wurden, erlagen meist später als die Milzbrand-Kontrolltiere. Die Trypanosomeninfektion scheint den Verlauf der experimentellen Milzbrandinfektion zu verlangsamen. Eine antagonistische Wirkung der Milzbrandbazillen gegen die Trypanosomeninfektion wurde nicht beobachtet.

4) In Bestätigung der Untersuchungen von Emmerich und Loew konnte auch bei Ratten eine antagonistische Wirkung von Bacterium pyocyaneum gegen Milzbrand nachgewiesen werden.

Wegen Mangels an Versuchstieren und dem Heranrücken der Zeit meiner Heimreise mußte ich zu meinem großen Bedauern ein eingehenderes Studium der aufgeworfenen Frage aufgeben, doch hoffe ich, gelegentlich meine Experimente fortsetzen zu können.

Für die freundliche Unterstützung bei meiner Arbeit sage ich Herrn Prof. Silberschmidt auch an dieser Stelle meinen besten Dank.

Literaturverzeichnis.

1) Frank, G., Ueber den Untergang der Milzbrandbazillen im Körper der weißen Ratten. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 8.) — 2) Metschnikoff, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1890. — 3) Emmerich und Loew, Arch. f. Hyg. Bd. 80. — 4) Daels, F., Beitrag zum Studium des Antagonismus zwischen Karzinom-, Spirillen- und Trypanosomeninfektion. (Arch. f. Hyg. Bd. 72.) — 5) Emmerich und Loew, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 16. — 6) Hall, On the immunity possessed by white rats against anthrax. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 66.) — 7) Bulloch und Bramer, Proceed. of Roy. Soc. London. Vol. 90. — 8) Kolle und Wassermann, Handb. d. pathog. Mikroorganism. Bd. 1. 1913.

Nachdruck verboten.

Beitrag zur Serodiagnostik der Syphilis mittels der Sachs-Georgischen Ausflockungsreaktion.

[Aus dem Medizinaluntersuchungsamt Potsdam (Vorstand: Kreisarzt Dr. Marmann).]

Von Kreisassistenzart Dr. **Ammenhäuser.**

Wenn auch der große und bleibende Wert der Wassermannschen Reaktion (W. R.) für die Luesdiagnostik wohl allgemein anerkannt wird, so haben die jetzigen Verhältnisse doch große Nachteile derselben rein technischer Natur gezeitigt, die vor dem Kriege nicht vorhanden waren. Letztere bestehen in erster Linie darin, daß die notwendigen Reagentien, vor allem Komplement, Hammelblut und Ambozeptor, nicht nur sehr kostspielig geworden, sondern auch mitunter überhaupt nur noch mit der größten Schwierigkeit zu beschaffen sind.

Hinzu kommt noch, daß, entsprechend der enormen Zunahme der Geschlechtskrankheiten durch den Krieg, die Serodiagnostik der Syphilis gegen früher einen ganz gewaltig vermehrten und wohl in den nächsten Jahren noch immer zunehmenden Umfang angenommen hat.

So betrug z. B. im hiesigen Medizinaluntersuchungsamt die Summe der angestellten Wassermannschen Reaktionen 1913 noch 110, 1919 dagegen 8350; dieselbe hat sich also beinahe verachtzigfacht. Auch in diesem Jahre machte sich gegenüber dem Vorjahre eine weitere bedeutende Steigerung bemerkbar. Im Januar 1920 betrug die Zahl der Wassermannschen Untersuchungen 853 gegenüber 264 in dem entsprechenden Monat des Vorjahres, im Februar 1920: 804 gegenüber 374 des Vorjahres, also wieder ungefähr die 3-fache Menge!

Um so mehr müßte es also erstrebenswert erscheinen, eine Ersatzmethode herauszufinden, die zwar einerseits durch Vereinfachung und Verbilligung der Methodik die Nachteile der W. R. umgeht, andererseits aber auch gleichzeitig wieder ihre großen Vorzüge, die Möglichkeit einer exakten Syphilisdiagnose, in sich vereinigt.

Die Methode nun, die nach den verschiedensten Literaturangaben diesen Anforderungen scheinbar noch am nächsten kommt, ist neben der Meinickeschen Reaktion, die durch die Zweizeitigkeit und eine gewisse subjektive Handhabung der Versuchsanordnung dem erstrebenswerten Ziel der Vereinfachung jedenfalls noch ferner steht, zweifellos die Sachs-Georgische Ausflockungsreaktion (S.-G. R.), die von den genannten Autoren 1918 in No. 33 der Med. Klinik zuerst angegeben ist und bekanntlich auf einer durch geeignete Cholestearinierung der Extrakte bedingten Sichtbarmachung von Globulinveränderungen durch Ausflockung beruht, die durch das Zusammenwirken der Serumglobuline und Organextraktlipoide entstehen. Neben der erstaunlich leichten Ausführung hat die S.-G. R. vor der Meinickeschen Reaktion auch noch den großen Vorteil voraus, daß mit ihr in gleicher Weise wie mit der W. R. Lumbalflüssigkeiten untersucht werden können.

Sehr günstig lauten ferner die mittels der S.-G. R. gewonnenen Resultate der Nachprüfungen, die bereits von zahlreichen Autoren vorliegen. Als Nachteil wird in erster Linie die Möglichkeit von unspezifischen Reaktionen bei Tuberkulose, Tumoren und fieberhaften Erkrankungen angegeben.

Ohne des näheren auf die Theorie der Ausflockungsreaktionen überhaupt einzugehen, beschränken wir uns hier kurz auf die Wiedergabe der mit der S.-G. R. erzielten und in der Literatur bekannt gegebenen Resultate.

Eine völlige Uebereinstimmung nach Sachs-Georgi und nach Wassermann fanden:

Sachs-Georgi[1]) in	94,94	Proz.
Löns[2]) in	95,5	„
Scheer[3]) in	94,38	„
Gaethgens[4]) in	93,7	„
Meyer[5]), Lippe[6]), Nathan[7]), Münster[8]) in	93	„
Konitzer[9]) in	86	„
Schröder[10]) in	85	„
Weichardt und Schrader[11]) in	82	„
Hauck[12]) in	80,66	„ der Fälle.

---

1) Med. Klin. 1918. No. 33. — 2) Deutsch. med. Wochenschr. 1919. No. 21. — 3) München. med. Wochenschr. 1919. No. 32. — 4) München. med. Wochenschr. 1919. No. 33. — 5) Med. Klin. 1919. No. 11. — 6) Med. Klin. 1918. No. 50. — 7) Med. Klin. 1918. No. 41. — 8) München. med. Wochenschr. 1919. No. 33. — 9) Med. Klin. 1919. No. 14. — 10) Med. Klin. 1919. No. 21. — 11) Med. Klin. 1919. No. 6. — 12) München. med. Wochenschr. 1919. No. 49.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Weniger günstige Resulstate hatte Blumenthal[1]), der bei 1255 Untersuchungen von Serumproben einen unverhältnismäßig hohen Prozentsatz unspezifischer Sachs-Georgi-Reaktionen bei Tuberkulose (von 19 Fällen = 73 Proz. positiv) und Fleckfieberkranken (von 41 Fällen = 58,5 Proz. positiv) feststellen konnte. Auch Hauck fand bei 600 Serumproben (210 Fälle von Syphilis, 390 Fälle verschiedener Erkrankungen) 7,5 Proz. unspezifische positive Reaktionen, die sich analog den Untersuchungen von Blumenthal in erster Linie auf Lungentuberkulose (10 Fälle) und Carcinomkranke (7 Fälle) erstrecken.

Nach einer neueren Vorschrift ist nun von Sachs-Georgi angegeben worden, daß durch eine ganz einfache Aenderung der Versuchsanordnung die unspezifischen Reaktionen so gut wie ausgeschaltet werden können, nämlich durch 18—24-stündiges Verweilen der Versuchsröhrchen im Brutschrank, während nach der früheren Vorschrift die Röhrchen nur 2 Stunden im Brutschrank und über Nacht bei Zimmertemperatur aufbewahrt werden sollten.

Mit dieser Modifikation haben nun auch wir im hiesigen Medizinaluntersuchungsamt eine Nachprüfung der S.-G. Ausflockungsreaktion vorgenommen, während wir uns sonst genau an die bekannte, von Sachs und Georgi angegebene Methodik hielten.

Wir wollen hier gleich vorausschicken, daß, wie wir durch einige vergleichende Versuche feststellen konnten, bei 24-stündigem Verweilen im Brutschrank tatsächlich verschiedene unspezifische Resultate wegfielen, die bei der anderen Versuchsanordnung vorhanden waren. Die spezifischen, mit der W. R. analogen positiven Reaktionen hingegen wurden, wenigstens bei den von uns zu diesen Untersuchungen herangezogenen Seren, in keinem Falle beeinträchtigt, abgesehen vielleicht von geringen Schwankungen in der Intensität des Ausfalls.

Zur Prüfung auf unspezifische Reaktionen standen uns nur die Seren von Typhusverdächtigen, also jedenfalls schwer Fiebernden, zur Verfügung, die wir zur Anstellung des Widals erhielten. Da nun für eine unspezifische Ausflockung naturgemäß solche Zustände in Betracht kommen, die mit einer Veränderung des Serumglobulins einhergehen, was aber erfahrungsgemäß nicht nur bei schwer komsumierenden, sondern gerade auch bei fieberhaften Erkrankungen der Fall ist, so erschien uns auch dieses Material zu dem besonderen Zweck gut geeignet. Seren von Tuberkulösen oder Carcinomkranken waren für uns leider nicht erhältlich.

Als Antigene benutzten wir nacheinander 4 verschiedene Extrakte, zunächst Extrakt No. 26 und 27, die uns in liebenswürdiger Weise von Herrn Prof. Sachs zur Verfügung gestellt wurden. Ferner stellten wir uns nach dem ungefähren Rezept von Sachs-Georgi einen anscheinend sehr brauchbaren cholestearinierten Meerschweinchenherzextrakt selber her.

Außerdem gelang es uns, unseren Luesleberextrakt, den wir für die W. R. ständig verwenden und aus dem Kaiser-Wilhelm-Institut für experimentelle Therapie in Berlin-Dahlem beziehen, in geeigneter Weise zu cholesterinieren und für die S.-G. R. brauchbar zu machen.

Zunächst versuchten wir es hierbei ohne Cholestearinzusatz, aber ohne Erfolg. Sodann gaben wir in langsam steigenden Dosen 1-proz.

---

1) Med. Klin. 1919. No. 31.

alkoholische Cholestearinlösung zu und stellten so den zu verwendenden Extrakt mit einer großen Reihe klinisch und serologisch sicher positiver und sicher negativer Seren ein. Hierbei machten wir, ebenso wie Blumenthal, die Beobachtung, daß mit der steigenden Cholestearinmenge auch immer mehr positive Reaktionen herauskamen, die Empfindlichkeit und Reaktionsbreite also immer mehr zunahm, allerdings auf Kosten der Spezifität. Denn bevor die Grenze erreicht ist, wo alle Wassermann-positiven Seren auch nach Sachs-Georgi positiv reagieren, beginnen gewöhnlich auch schon einzelne Wassermann-negative Seren langsam nach der positiven Seite hin umzuschlagen, also unspezifische Reaktionen aufzutreten. Man steht also dann vor einem gewissen Dilemma, ob man seine Reaktion lieber auf eine größere Empfindlichkeit oder eine größere Spezifität einstellen soll.

Und hierin scheint nun gerade noch die Hauptschwierigkeit bei der Sachs-Georgischen Reaktion zu liegen, nämlich gerade den richtigen Grenzwert in der Cholestearinmenge zu bestimmen, der bei unseren Luesleberextrakten zwischen 0,7 und 0,9 ccm Cholestearinlösung auf 10 ccm Extraktmenge liegt. Jedenfalls scheint aber auch, wie wir feststellen konnten, die optimale Cholestearindosis bei verschiedenen Extraktsorten ziemlich zu schwanken, und es gewisse Extrakte zu geben, die sich für die Cholestearinierung weniger gut eignen.

Offenbar gelingt es auch, wie Blumenthal beobachten konnte, bei manchen Extrakten überhaupt nicht, sie in geeigneter Weise zu cholestearinieren und für die Ausflockungsreaktion brauchbar zu machen, ein Umstand, der uns allerdings nicht aufgestoßen ist. Nach alledem kommen wir also auf Grund unserer Versuche zu dem Schluß, daß die Empfindlichkeit und Spezifität und somit auch die Brauchbarkeit der S.-G. R. für die Praxis lediglich eine Extraktfrage oder, noch besser, eine Frage der gerade zu dem gewählten Extrakt geeigneten Cholestearindosis ist, die aber so lange als noch nicht völlig gelöst angesehen werden kann, als es nicht möglich ist, hier gewisse Normalwerte zu schaffen. Denn die Aufgabe, „die Organextrakte in geeigneter Weise zu cholestearinieren und zu prüfen“, ist, wie wir in Uebereinstimmung mit Blumenthal feststellen konnten, in der Praxis nicht so ganz einfach, wie es vielleicht den Anschein haben mag, und unterliegt zu sehr der subjektiven Beurteilung des betreffenden Versuchsanordners.

So unterscheiden sich die einzelnen von Sachs und Georgi zur Verfügung gestellten Extrakte wohl in der Hauptsache nur durch die Menge des zugesetzten Cholestearins.

Dieser Umstand erklärt auch ohne weiteres die nicht ganz übereinstimmenden Resultate in den einzelnen Literaturangaben und, dadurch bedingt, die noch ziemlich verschiedenartige Bewertung der S.-G. R., da ja nicht alle Autoren mit der gleichen Extraktsorte gearbeitet haben.

Es ist also auch nicht ohne weiteres richtig, der S.-G. R. im allgemeinen eine größere Empfindlichkeit und Reaktionsbreite als der W. R. zuzusprechen, wie es von verschiedenen Autoren getan ist, da dies ja offenbar ganz von dem betreffenden Extrakt, mit dem man arbeitet, bzw. dessen Cholestearingehalt abhängt.

Wir haben nun im ganzen 1205 Seren und 9 Cerebrospinalflüssigkeiten untersucht und das Resultat, nach den einzelnen Extrakten geordnet, in der später folgenden Uebersicht zusammengestellt.

Zur Ablesung bedienten wir uns, ebenso wie bei der Widalschen Reaktion, lediglich der Lupe.

Unter den geprüften Seren befinden sich 111, die nicht von luesverdächtigen Personen stammen, sondern zur Anstellung der Widalschen Reaktion eingesandt und von uns, wie bereits vorausgeschickt, zur Prüfung auf unspezifische Reaktion verwandt wurden. Die Anzahl dieser Seren ist hinter der Gesamtsumme stets in Klammern beigefügt.

Die entsprechenden Werte für unsere 4 Extrakte lauten:

Extrakt 26: geprüft insgesamt 464 (33) Sera.

Von diesen zeigte die W. R. 2mal Eigenhemmung bei negativem Sachs-Georgi, die S.-G. R. 2mal Eigenflockung bei positivem bzw. zweifelhaftem Wassermann.

Für die Beurteilung kommen also 460 Seren in Betracht.

Hiervon waren:

W. R.	S.-G. R.	S.-G. R.	S.-G. R.
positiv 137	positiv 119 = 86,8 Proz.	negativ 13 = 9,5 Proz.	zweifelhaft 5 = 3,7 Proz.
negativ 310	negativ 305 = 98,4 „	positiv 0 = 0 „	zweifelhaft 5 = 1,6 „
zweifelhaft 13	zweifelh. 4 = 30 „	negativ 6 = 46 „	positiv 3 = 24 „
Summe: 460	428 = 93 Proz. Uebereinstimmung		

Außerdem wurden 6 Cerebrospinalflüssigkeiten geprüft, wovon 3 übereinstimmend negativ, 2 übereinstimmend positiv waren, während 1mal die W. R. Eigenhemmung zeigte bei negativer S.-G. R.

Von den 33 Widal-Seren reagierte 1 in Uebereinstimmung mit der W. R. positiv. Eine entsprechende Anfrage ergab, daß hereditäre Lues vorlag. Unspezifische Reaktionen unter diesen wurden also nicht beobachtet.

Extrakt 27: geprüft insgesamt 306 (28) Sera.

Einmal zeigte die W. R. Eigenhemmung, die S.-G. R. Eigenflockung bei negativem Sachs-Georgi bzw. Wassermann.

Von den übrigen 304 Seren waren:

W. R.	S.-G. R.	S.-G. R.	S.-G. R.
positiv 84	posisiv 66 = 78,6 Proz.	negativ 17 = 20 Proz.	zweifelhaft 1 = 1,4 Proz.
negativ 214	negativ 202 = 94,5 „	positiv 11 = 5 „	zweifelhaft 1 = 0,5 „
zweifelhaft 6	zweifelh. 1 = 17 „	negativ 1 = 17 „	positiv 4 = 66 „
Summe: 304	269 = 88,5 Proz. Uebereinstimmung		

Ferner waren 2 Cerebrospinalflüssigkeiten übereinstimmend mit der W. R. negativ.

Von den 28 Widal-Seren reagierte 1, in Uebereinstimmung mit der W. R., positiv bei der nachträglichen klinischen Diagnose „angina specifica“, 1 zweifelhaft bei negativem Wassermann und völlig negativem klinischen Befund. Jedoch war in letzterem Falle das Serum nicht mehr ganz einwandfrei, und kann wohl dieser Umstand zu dem zweifelhaften Resultat beigetragen haben.

Selbst hergestellter cholestearinierter Meerschweinchenherzextrakt: geprüft insgesamt 175 (26) Seren.

Hiervon waren:

W. R.		S.-G. R.		S.-G. R.		S.-G. R.	
positiv	34	positiv	27 = 79,5 Proz.	negativ	6 = 17,6 Proz.	zweifelhaft	1 = 2,9 Proz.
negativ	136	negativ	133 = 98 „	positiv	3 = 2 „	zweifelhaft	0 = 0 „
zweifelhaft	5	zweifelh.	2 = 40 „	negativ	3 = 60 „	positiv	0 = 0 „
Summe	175		162	= 92,6 Proz. Uebereinstimmung			

Von den 26 Widal-Seren reagierte 1 positiv bei zweifelhafter W. R.; der Widal war in diesem Falle positiv Typhus 1 : 200 nach 2 Stunden, im Blutkuchen wurden Typhusbazillen nachgewiesen. Hier liegt also eine unspezifische Reaktion vor bei Typhus abdominalis. Denn eine Nachfrage ergab, daß keinerlei Anhaltspunkte für hereditäre oder erworbene Syphilis vorlagen.

Cholesterinierter Luesleberextrakt: geprüft insgesamt 260 (24) Seren.

Einmal zeigte die W. R. Eigenhemmung bei negativer S.-G. R.

Von den übrigen 259 Seren waren:

W. R.		S.-G. R.		S.-G. R.		S.-G. R.	
positiv	62	positiv	52 = 84 Proz.	negativ	8 = 13 Proz.	zweifelhaft	2 = 3 Proz.
negativ	195	negativ	191 = 98 „	positiv	3 = 1,5 „	zweifelhaft	1 = 0,5 „
zweifelhaft	2	zweifelhaft	0 = 0 „	negativ	1 = 50 „	positiv	1 = 50 „
Summe	259		243	= 93,8 Proz. Uebereinstimmung			

Außerdem war ein Liquor übereinstimmend mit der W. R. positiv. Die 24 Widal-Seren reagierten alle negativ.

Insgesamt ergab demnach von den 111 Widal-Seren, die 38mal einen positiven Widal in einer Verdünnung von mindestens 1 : 100 aufwiesen, nur 1, also noch nicht 1 Proz. der Gesamtsumme, eine unspezifische Reaktion bei bakteriologisch festgestelltem Typhus abdominalis, ohne daß sich hier anamnestisch, hereditär oder klinisch Anhaltspunkte für Lues ergeben hätten, wobei allerdings auch die W. R. ein zweifelhaftes Resultat lieferte.

Uebereinstimmung mit der Wassermannschen Reaktion wurde also im Durchschnitt in 92 Proz. der Fälle erzielt.

Von den insgesamt 855 Wassermann-negativen Seren reagierte Sachs-Georgi 17mal positiv. Von diesen 17 Fällen haben wir 14mal nähere Angaben über das klinische Krankheitsbild erhalten, und zwar war hiervon in 5 Fällen die W. R. früher positiv und infolge spezifischer Behandlung negativ geworden. In 3 Fällen sprach das klinische Krankheitsbild, trotz negativem Wassermann, absolut für Lues, so daß auch bereits mit der antiluetischen Behandlung vor Anstellung des Wassermanns begonnen war.

In diesen 8 Fällen kann man wohl ohne weiteres annehmen, daß die S.-G. R. empfindlicher als die W. R. war.

Bei den übrigen 6 Fällen lautete die klinische Diagnose: Bubo abscedens, Hemiplegie, Polyarthritis rheumatica, luetische Geschwüre am ganzen Körper, Pupillenstarre und Vitium cordis, alles Erkrankungen, in deren Aetiologie, mit geringen Ausnahmen, Lues eine Rolle spielt.

Von den insgesamt 317 Wassermann-positiven Seren reagierte Sachs-Georgi 44mal negativ, wovon wir 38mal nähere Angaben über das klinische Krankheitsbild besitzen. Jedoch bieten dieselben, da in allen Fällen auch klinisch Lues einwandfrei vorlag, nur in der Hinsicht etwas Bemerkenswertes, als 16mal bereits 1 oder mehrere antiluetische Kuren vorangegangen waren. Hier könnte also der umgekehrte Fall vorliegen, nämlich daß sich die S.-G. R. bei diesen aus irgendwelchen nicht näher ersichtlichen Gründen weniger empfindlich zeigte und infolge der Behandlung bereits nach der negativen Seite hin umgeschlagen war.

Es bleiben also nur 28 Fälle, gleich 2,3 Proz. der Gesamtsumme, übrig, wo man von einem sicheren Versagen der S.-G. R. bei klinisch und serologisch festgestellter Syphilis sprechen kann.

Bemerkenswert ist schließlich noch, daß sämtliche geprüften Lumbalflüssigkeiten, abgesehen von dem 1 Fall von Eigenhemmung, ein mit der Wassermannschen Reaktion übereinstimmendes Resultat ergaben.

Was nun das Verhältnis der einzelnen Werte bei den verschiedenen Extrakten zueinander anbelangt, so haben, wie wir sehen, Extrakt 26, der cholestearinierte Meerschweinchenherz- und der cholestearinierte Luesleberextrakt mit 93 Proz., 92,6 Proz. und 93,8 Uebereinstimmung ziemlich gleichmäßig gearbeitet, während Extrakt 27 mit nur 88,5 Proz. Uebereinstimmung eigentlich ziemlich auffallend hinter den anderen zurückbleibt und so unsere eingangs gemachten Ausführungen in der Extraktfrage bestätigt.

Ziehen wir nun für die Beurteilung dieser Unterschiede nur die beiden Hauptgruppen der nicht übereinstimmenden Resultate, nämlich die der positiven und die der negativen Sachs-Georgi-Reaktionen bei umgekehrtem Ausfall der Wassermannschen Reaktion heran, so finden wir bei Extrakt 27 schon den Prozentsatz der 1. Gruppe mit 5 Proz. ziemlich hoch, ganz besonders gegen 0 Proz. bei Extrakt 26, und 2 Proz. bzw. 1,5 Proz. bei den übrigen beiden Extrakten.

Ebenso ist auch bei der 2. Gruppe wieder der Unterschied bei Extrakt 27 und 26 mit 20 Proz. und 9,5 Proz. besonders auffallend, während auch hier die entsprechenden Werte für die übrigen beiden Extrakte mit 17,6 Proz. und 13 Proz. in der Mitte liegen.

Stellen wir nun noch die einzelnen Werte bei diesen beiden Gruppen zum Vergleich gegenüber, so stellen wir fest, daß, wenn wir lediglich den Ausfall der Wassermannschen Reaktion für die Spezifität als Maßstab anlegen, bei unseren Versuchen der Prozentsatz der unspezifisch negativen Resultate mit durchschnittlich 15 Proz. die Anzahl der unspezifisch positiven Reaktionen mit durchschnittlich nur 2,1 Proz. weit übersteigt.

Das Ergebnis unserer Untersuchungen können wir also kurz in folgende 5 Punkte zusammenfassen:

1) Bei richtiger Versuchsanordnung läßt sich mit der S.-G. R. ein weitgehender Parallelismus mit der W. R. erzielen.

2) Die unspezifisch positiven Reaktionen scheinen, soweit sie wenigstens fieberhafte Erkrankungen betreffen, bei 24-stündigem Belassen der Versuchsröhrchen im Brutschrank auf ein Minimum beschränkt zu bleiben.

3) Der wichtigste und zugleich schwierigste Punkt bei der S.-G. R. ist die Einstellung eines brauchbaren Organextraktes mit der optimalen Cholestearindosis, die aber bei verschiedenen Extrakten ziemlich schwankt. Je höher der Cholestearingehalt, desto größer im allgemeinen die Empfindlichkeit und Reaktionsbreite, allerdings vielfach auf Kosten der Spezifität.

4) Die Brauchbarkeit der S.-G. R. für die Praxis ist daher lediglich eine Extraktfrage, oder noch besser eine Frage der gerade zu dem gewählten Extrakt geeigneten Cholestearindosis.

5) Diese Frage kann man aber so lange als noch nicht völlig gelöst ansehen, als es nicht möglich ist, hier gewisse Normalwerte zu schaffen, sondern es lediglich der subjektiven Beurteilung des einzelnen Versuchsanordners überlassen bleibt, wie empfindlich gerade er seine Reaktion einstellen will.

Schlußurteil.

Die S.-G. R. weist also zweifellos bei ihren vielen Vorzügen noch Lücken in der Extraktfrage auf; dieselben ließen sich aber in einfacher Weise bis zu einem gewissen Grade dadurch ausgleichen, daß man, ebenso wie bei der W. R., auch hier stets mit mehreren, vielleicht etwas verschieden eingestellten Extrakten gleichzeitig arbeitet und bei sich ergebenden Differenzen ein zweifelhaftes Resultat annimmt. Vorbehaltlich dieser Voraussetzung können wir nun unseres Erachtens trotz der entgegenstehenden Bedenken auch heute schon die S.-G. R. hinsichtlich ihrer Brauchbarkeit für die Serodiagnostik der Syphilis der W. R. als beinahe gleichwertig zur Seite stellen, namentlich wenn man berücksichtigt, daß ja auch bei der W. R. mit verschiedenen Extrakten und an verschiedenen Untersuchungsstellen nicht immer ganz gleichlautende Resultate erzielt werden, also auch hier die Extraktfrage in dieser Beziehung noch nicht in idealer Weise gelöst ist.

Nachdruck verboten.

Beiträge zur Kenntnis der Lyssa.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Fukuoka (Laboratoriumsvorstand Prof. Dr. K. Miyairi).]

Von Dr. **Toshinobu Ōhira.**

I. Abnormaler Verlauf der Inkubation.

Högyes schreibt in Nothnagels Handbuch über die Lyssa:

„Die Prognose der ausgebrochenen Wut ist absolut ungünstig. Wenn die Symptome der wahren Hydrophobie sich bemerkbar machten, so ist der tödliche Ausgang nach bisherigen älteren und neueren übereinstimmenden Erfahrungen unvermeidbar.“

Bis jetzt ist kein Fall bekannt, wo bei einem Menschen nach Auftreten des ersten Zeichens der Lyssa diese wieder rückgängig wurde. Dagegen finden sich in der Literatur ziemlich viele Fälle, in welchen abortive Anfälle sich nach der Schutzimpfung zeigten. Diese abortiven Wutanfälle erklärten die verschiedenen Autoren ziemlich verschiedenartig, bis Simon[1]) mit seiner erschöpfenden Literatur und Kritik auftrat. Bis 1913 konnte er nämlich etwa 103 solcher abortiven Lyssafälle zusammenstellen, von denen bei 84 der ganze Verlauf verfolgt werden konnte. Unter diesen 84 war in 6 Fällen von Bißwunden keine Rede, und nur wegen der Lyssaphobie war die prophylaktische Impfung ausgeführt worden, was Simon für eine Impflyssa durch fixes Virus hielt.

---

[1]) G. Simon, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 68. 1913.

Alle oben angeführten abortiven Wutanfälle stehen immer in gewisser Beziehung zur Schutzimpfung, worin irgendein ursächlicher Zusammenhang liegen muß. Auch Kozewalow[1]) (1914) beobachtete einige solcher abortiven Fälle nach Schutzimpfung und stimmte der Simonschen Annahme bei. Beim Tierversuch mit Straßenvirus, und zwar mit abgeschwächtem, kamen selten Fälle vor, wo die Wutanfälle nur abortiv verliefen [Högyes[2]), Babes[3]), Remlinger[4]), Löte[5]), Jos. Koch[6]) u. a. m.]. Davon sind besonders hervorzuheben die Fälle von Babes und von Löte. Babes beobachtete bei seinem Tierversuch mit stark abgeschwächtem Straßenvirus, wenn auch selten, eine eigentümliche Verlaufsanomalie der Wut, wo sich die Inkubation ungewöhnlich in die Länge zog und in dieser prolongierten Inkubation abortive Wutanfälle auftraten. Während das sog. prämonitorische Fieber wiederholt auftrat, zeigten sich Symptome, woraus man entnehmen kann, jetzt käme wohl der Wutanfall. Im Gegenteil schritten aber die Symptome nicht weiter fort, sondern gingen eher allmählich zurück. Danach blieben die Versuchstiere während eines gewissen Zeitraumes anscheinend gesund, gingen aber schließlich in echten Wutanfällen zugrunde. Babes nannte solchen Lyssaverlauf „die periodische Wut“. Löte beobachtete genau dasselbe wie Babes, und nannte diese Anomalie „Lyssa recurrens“.

Beim Menschen findet man auch manchmal Wutanfälle mit einer sehr langen Inkubation. Jedoch ist hier meines Wissens bis jetzt kein Fall bekannt, wie bei den Versuchstieren von Babes und Löte. Möglicherweise liegt Uebersehen vor, einmal, weil das Vorkommen so selten ist, und dann, weil der Zeitraum zwischen dem vorangehenden abortiven und dem nachfolgenden echten Anfall so enorm weit voneinander entfernt war und somit der erstere als etwas Zufälliges angesehen werden konnte. Ich habe einmal Gelegenheit gehabt, dieses seltsame Vorkommnis zu beobachten und den Fall zu sezieren und sowohl anatomisch-mikroskopisch als tierexperimentell die nötigen Untersuchungen auszuführen. Daß es sich dabei um echten Wutanfall handelte, ist nicht zu bezweifeln.

Pat. H. R., 43 Jahre alt, Stallknecht. Anamnese: Bisher durchaus gesund, keine nennenswerte Krankheit durchgemacht, mäßiger Potator, kein Raucher. Beginn Juli 1911, von einem Hunde am rechten Daumen gebissen, leichte Wunde; nach einigen Tagen ohne ärztliche Behandlung geheilt, mit Hinterlassung unbedeutender Narbe. Am 18. August 1912 fühlte er plötzlich Kopfschmerz, welchem Frösteln und Fiebergefühl folgten.

Am nächsten Tage gesellte sich Schmerz der alten Narbe am Daumen dazu, der allmählich nach dem Ellenbogen- und Schultergelenk auf derselben Seite zog. Pat. war sonst gesund, dachte an nichts Ernstes, hütete einfach sein Bett und nahm dabei bloß einige alltägliche Hausmittel ein. Der Schmerz quälte ihn aber Tag und Nacht, bis endlich am 20. August leichte, aber beklemmende, inspiratorische, krampfhafte Atemnot sich mit Schluckbeschwerden einstellte. Beide dauerten etwa 1 Woche, wurden aber allmählich leichter, um schließlich vollständig zu verschwinden, so daß Pat. nach einigen Wochen wieder ganz gesund wurde.

Am Abend des 24. Jan. 1913 klagte er wieder über Kopfschmerz, wozu nachher Frösteln und Fieber kamen. Am nächsten Tage verschlimmerte sich das Leiden, bis der qualvolle Schmerz in der alten Narbe wieder auftrat, zu dem sich am 5. Febr. auch die Atemnot wieder einstellte, welche, wie vorher, hauptsächlich in krampfhafter Störung der Inspiration bestand, mit Schluckbeschwerden verbunden. In der Nacht

---

1) Kozewalow, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 71. 1914.

2) Högyes, Nothnagels Handbuch.

3) Babes, Virch. Arch. Bd. 110. 1887. — Zeitschr. f. Hyg. Bd. 65, 1910.

4) Remlinger, Presse méd., 12. Sept. 1908.

5) Löte, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 39. 1905. p. 32.

6) Jos. Koch, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 64 u. Bd. 67. 1909—1910. — Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 64. 1912.

des 6. Febr. wurde Pat. plötzlich von Tobsucht befallen, und warf alles über den Haufen was er überhaupt ergreifen konnte. Der Arzt stellte folgenden Status praesens fest: Statur groß, kräftig gebaut, Ernährung gut, nichts Auffallendes am Thorax und Bauch, Pupille mittelmäßig weit, auf beiden Seiten gleich, Lichtreflex etwas springend. Die Einnahme irgendeiner Flüssigkeit oder Abkühlen des Kopfes, überhaupt alles, was kühl war, selbst was ihn an Kälte erinnerte, erweckte bei ihm heftigen Krampf der Schlundmuskeln. Er tobte zeitweise, wie im Verfolgungswahn, und hatte daneben die Illusion eines fürchterlichen Gestanks. Körpertemp. 37,2° C; Puls gut, ca. 80. 7. Febr. Den ganzen Tag hindurch getobt. Nachmittags Schwäche des rechten Armes. 8. Febr. nachmittags Spitalaufnahme. Augen glänzend, Conjunctiva stark injiziert, starke Salivation (der Speichel floß aus dem Mundwinkel heraus). Schluckmuskelkrampf war zu konstatieren, wenn sein Mund mit Wasser befeuchtet wurde. Wegen des Tobens konnte keine genaue Untersuchung vorgenommen werden. Seit Mitternacht etwas ruhig (ins Lähmungsstadium übergegangen).

9. Febr. morgens. Pat. bewußtlos, Pupille eng, auf beiden Seiten ziemlich gleichweit; Lichtreflex sehr stumpf, Salivation noch stark. Der Atem etwas frequenter, Herztöne an allen Ostien unrein, Puls klein, frequent (über 100, noch mehr). Körpertemp. unter 35,5° C, Extremitäten kühl anzufühlen und motorisch total gelähmt, nirgends ein Widerstand, bloß an den unteren Extremitäten eine Art krampfhafter Beugebewegung. Reflex im allgemeinen stumpf. Abends werden die Pupillen allmählich weiter, kornealer Reflex erloschen, Atem schnarrend und Puls klein, unzählbar frequent, manchmal aussetzend. Die krampfhafte Beugebewegung an den unteren Extremitäten nicht mehr vorhanden. An diesem Tage erbrach Pat. sich 6mal bis in die Nacht hinein, und zwar jedesmal ca. 100—300 ccm dunkelbräunlicher, dicker Flüssigkeit (Hb.-Reaktion +++). 10. Febr. morgens: Atem oberflächlich und unregelmäßig (ab und zu wie Cheyne-Stokesscher Typus), und Puls unregelmäßig, oft aussetzend. Diesen Morgen erbrach er sich wieder 3mal. Körpertemp. bis dahin sehr niedrig, stieg am Mittag auf 36,7° C, weiter um 2 Uhr nachm. bis 37° C; um 3 Uhr Exitus. Bei der Sektion (28 Std. nach dem Tode): hochgradige Stauung der Eingeweide; daneben sind nur noch einige Stauungserosionen der Magenschleimhaut und kleine Blutungsherde am linken 3. Hirnventrikel zu verzeichnen.

Mit der frischen Hirnsubstanz wurden 6 mittelgroße Kaninchen teils subdural, teils korneal geimpft. Sämtliche Tiere erkrankten nach 14—20 Tagen an Wut, und zwar das eine an rasender, die übrigen 5 an stiller. Die anatomischen Veränderungen dieser Tiere bestehen in der Hauptsache wieder in hochgradiger Hyperämie der inneren Organe. Die Impfung wurde immer weiter fortgesetzt; die Tiere wurden regelmäßig durchschnittlich nach ca. 17 Tagen krank. Zur mikroskopischen Untersuchung fixierte ich die Gehirnstücke in Zenkerscher Flüssigkeit, dem Orthschen Gemisch oder 10-proz. Formalinlösung; genügend fixierte Stücke wurden in Zelloidin oder Paraffin eingebettet und zerschnitten.

Zur Färbung benutzte ich die Lentzsche Methode, teilweise aber auch die Hämatoxylin-Eosindoppelfärbung, wobei die Schnitte erst genügend lange in der Eosin- oder Erythrosinlösung gefärbt, dann in absoluten Alkohol mit 1-proz. Kalilauge übertragen wurden, bis sie nur noch schwach rosarot aussahen, dann durch absteigende Alkoholstufen ins Wasser gebracht, gut gewaschen wurden, und endlich in die Hämatoxylinlösung kamen. Im fertigen Präparate erscheinen die Zellkerne durch Hämatoxylin dunkelviolett, ihre Kernkörperchen durch Eosin rosarot gefärbt, und Negrische Körperchen treten in prägnanter karminroter Differenzierung hervor, so daß sie, ob klein oder groß, gleich beim ersten Blick herauszufinden sind. Diese Färbung ist sehr dauerhaft; die glungenen Präparate sind jetzt noch gut erhalten.

Im Protoplasma der Pyramidenzellen finden sich rundliche oder ovale Wutkörperchen von 2—5 μ bis 15—23 μ Größe. In größeren Wutkörperchen sieht man mehrere Innenformationen, welche meist unregelmäßig, ab und zu aber blumenartig angeordnet sind. Bei den Versuchstieren konnte ich immer nur kleine Wutkörperchen (ca. $2-4\ \mu$) finden ohne Innenformation.

Fälle von Menschenwut mit so ungewöhnlich langer Inkubation sind in der Literatur selten, auch ist es interessant, daß der abortive Anfall beim Menschen in der Inkubation auftrat. Dieses Auftreten in der Inkubation ist gewiß nichts Zufälliges, es ist vielmehr m. E. als ein abortiver Anfall zu betrachten, parallel dem, was Babes und Löte bei Tierversuchen mit abgeschwächtem Straßenvirus beobachtet hatten. Der abortive Anfall dürfte als eine äußere Erscheinung des Kampfes aufzufassen sein, zwischen dem angegriffenen Organismus und den Eindringlingen. Trägt ersterer den Sieg davon durch vollständige Vernichtung der letzteren, so tritt definitive Heilung ein; es folgt kein Anfall mehr. Sind aber die Eindringlinge nicht gänzlich ausgerottet, so tritt früher oder später ein neuer Anfall auf. Ist auch dieser wieder bloß unterdrückt, so ist der 3. Anfall zu erwarten usw., bis schließlich der angegriffene Organismus erschöpft zugrunde geht. Für diese Vorstellung spricht das sog. prämonitorische Fieber, welches bekanntlich beim Tierversuche während der langen Inkubation sehr oft wiederkehrt.

II. Das Lyssavirus im Blut.

Nach Högyes[1]) konnte Hertwig 1mal Hunde mit dem Blut von Straßenvirus krank machen, desgleichen Eckel und La Fosse. Auch Bujwid[2]) (1888) hatte dasselbe Resultat bei Kaninchen ebenso Marie[3]) (1905), und zwar bei 3 unter 20 Tieren.

Galli-Valerio[4]) (1905) hatte bei mehreren 100 Ratten bloß 1mal positiven Erfolg. Konradi[5]) (1908) ließ ein trächtiges Tier erkranken, welches einige Tage vor dem Ausbruch der Wut Junge geworfen hatte, die nach einiger Zeit auch an Wut erkrankten. Konradi glaubte daher an ein im Blute zirkulierendes Virus. Um dies zu beweisen, machte er Versuche an 2 Hunden, 8 Kaninchen und 8 Meerschweinchen, von denen letztere alle, von den Kaninchen aber nur 1 etwa nach 1 Monat erkrankten. Er schloß daher, daß das Meerschweinchen zu diesem Zwecke das geeignetste Tier sei und daß die Mißerfolge der anderen Forscher in dem ungeeigneten Tiermaterial zu suchen seien. Jos. Koch[6]) erkannte zwar an, daß das Lyssavirus im Blute zirkuliert, bezweifelte aber Konradis Erfolge.

Ich stellte mir nun die Aufgabe, die Frage weiter zu untersuchen.

Versuche mit Virus fixe.

Die Virulenz des fixen Virus ist je nach der Herkunft des Stammes verschieden. Ich benutzte für den Versuch 2 Stämme von fixem Virus, und zwar den Stamm A mit schwächster, und den Stamm E mit stärkster Virulenz.

Das fixe Virus Stamm A wurde bis jetzt durch etwa 200 Kaninchenleiber geschickt. Die Inkubation dauerte beim Kaninchen bei subduraler Impfung etwa 7 Tage. Das gewöhnliche kleine Versuchstier erkrankte durch subkutane Impfung fast nie. Bei intramuskulärer Impfung erkrankten von Mäusen ca. 60 Proz. und von Meerschweinchen nur 7 Proz.,

---

1) Högyes, Nothnagels Handbuch.

2) Bujwid, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 1888.

3) Marie, Compt. rend. soc. biol. 1905. No. 37. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 39).

4) Galli-Valerio, Centralbl. f. Bakt. Abt. I, Orig. Bd. 42. 1905.

5) Konradi, Ibid. Bd. 47. 1908.

6) Jos. Koch, Lyssa (Wassermann und Kolle, Handbuch).

aber kein Kaninchen. Etwa 0,0001 g frisches Virus genügte aber, um ein mittelgroßes Kaninchen durch subdurale Impfung binnen ca. 7 Tagen erkranken zu lassen. Mit 0,00001 g des Virus gelang dies beim gleichen Kaninchen nur selten.

Beim fixen Virus Stamm E betrug die Inkubation (unter denselben Bedingungen wie beim Stamm A) durchschnittlich 4 Tage. Von Mäusen erkrankten durch subkutane Impfung immer 100 Proz., von Meerschweinchen ca. 50 Proz., auch von Kaninchen ca. 10 Proz. an Lyssa, wogegen durch intramuskuläre Impfung alle Mäuse, ca. 90 Proz. Meerschweinchen und ca. 60 Proz. Kaninchen. Die minimale Morbiditätsdosis dieses Virus für Kaninchen beträgt durch subdurale Impfung ca. 0,000005 g. Dasselbe Kaninchen konnte auch mit 0,0000001 g frischem Virus selten krank gemacht werden. Seine Virulenz ist dabei so stark, wie die des bekannten Virus fixe Sassari nach Fermi.

Versuch I. Die Experimente wurden angestellt mit dem Blutserum von einem mittelgroßen Kaninchen, welches nach subduraler Impfung mit dem fixen Virus Stamm A erkrankt war und tödlich danieder lag, wie die Tabelle angibt:

Versuchstier	Körpergewicht	Geimpfte Serummenge	Impfungsmethode	Resultat
Meerschweinchen	337 g	0,1 ccm	subdural	(—) bis nach 70 Tagen
„	349 „	0,1 „	„	dgl.
„	319 „	0,2 „	„	„
„	361 „	0,2 „	„	„
„	313 „	0,2 „	„	„

(Versuchszeitdauer 24. Juni 1918 bis 5. Sept. 1919).

Die Versuchstiere schienen zeitweise etwas traurig, erholten sich aber nach einigen Tagen. Später konnte man bei ihnen keine Neigung zum Erkranken mehr bemerken; sie nahmen zu und waren munter. Die Beobachtung hörte nach etwa 70 Tagen auf.

Versuch II. Kann ein Versuchstier mit Erfolg krank gemacht werden, wenn man mit einem Stamme von noch stärkerer Virulenz und mit größerer Blutmenge experimentiert?

Der nächste Versuch wurde mit dem defibrinierten Blut von einem subdural geimpften Kaninchen gemacht, welches mit dem fixen Virus Stamm E tödlich erkrankte:

Versuchstier	Körpergewicht	Geimpfte Blutmenge	Impfuugsmethode	Resultat
Meerschweinchen	316 g	5,0 ccm	im Rücken-M.	(—) bis nach 50 Tagen
„	282 „	5,0 „	dgl.	dgl.
„	362 „	3,0 „	„	(—) „
„	295 „	5,0 „	im Bein-M.	(—) „
„	332 „	3,0 „	dgl.	(—) „
„	260 „	3,0 „	„	(—) „
„	324 „	0,1 „	subdural	(—) „
„	370 „	0,1 „	„	(—) „

(Versuchszeitdauer 17. Aug. 1918 bis 4. Okt. 1918.)

Die Beobachtung dauerte über 50 Tage, aber kein Tier erkrankte.

Versuch III. Man mußte es mit einer möglichst großen Menge Blut versuchen, um besseren Erfolg zu bekommen, weil das Lyssavirus im Blut sehr verdünnt ist. Deshalb experimentierte ich mit einer ziemlich großen Menge defibrinierten Blutes von einem erkrankten Kaninchen, welches mit dem fixen Virus Stamm E subdural geimpft war. Wegen der großen Menge des Blutes mußte in verschiedene Körperteile des Versuchstieres geteilt injiziert werden:

Impfstoff	Versuchstier	Körpergewicht	Geimpfte Blutmenge	Impfweise	Resultat
von Kaninchen No. L. 31	Meerschweinchen	510 g	28,0 ccm	intramuskuläre	(—) bis nach 50 Tagen
von Kaninchen No. L. 32	dgl.	630 „	10,0 „	dgl.	(—) dgl.
von Kaninchen No. L. 33	„	580 „	23,0 „	„	(—) „

(Versuchszeitdauer 30. Juni 1918 bis 20. Aug. 1918.)

Die Versuchstiere wurden durch die Injektion großer Mengen Blutes zeitlich stark geschwächt; sie fraßen nicht und kauerten in einer Ecke des Käfigs, erholten sich aber nach einigen Tagen und waren dann ganz munter. Die Beobachtung dauerte über 50 Tage.

Versuch IV. Die Morbidität an der Lyssa ist bei den Versuchstieren ziemlich verschieden. Von den gewöhnlichen kleinen Versuchstieren erkranken Mäuse sehr leicht an Lyssa, weshalb Mäuse mit einer möglichst großen Menge Blutes von erkrankten Kaninchen geimpft wurden, welche mit dem fixen Virus Stamm E subdural geimpft waren.

Versuchstier	Körpergewicht	Geimpfte Blutmenge	Impfmethode	Resultat
10 Mäuse	8—14 g	je ca. 1 ccm	intramuskulär	alle (—) bis nach 60 Tagen

(Versuchszeitdauer 4. Aug. 1918 bis 4. Sept. 1918.)

Versuch V. Hier wurden mit dem defibrinierten Blut eines Meerschweinchens Versuche gemacht, welches durch intramuskuläre Impfung mit dem fixen Virus Stamm E schwer erkrankt war:

Impfstoff	Versuchstier	Körpergewicht	Geimpfte Blutmenge	Impfmethode	Resultat
von Meerschweinchen No. 19	Meerschw.	380 g	5,0 ccm	intramuskulär	(—) bis nach 60 Tagen
von Meerschweinchen No. 20	„	430 „	7,0 „	dgl.	dgl.
von Meerschweinchen No. 21	„	330 „	5,0 „	„	(—) „
von Meerschweinchen No. 22	„	370 „	8,0 „	„	(—) „
von Meerschweinchen No. 23	„	520 „	4,0 „	„	(—) „

(Versuchszeitdauer 22. Juni 1919 bis 20. Aug. 1919.)

Aus den Versuchen ergibt sich, daß die Impfweise auf das Auftreten des Lyssavirus im Blute keinen Einfluß hat.

Versuch VI. In den oben angegebenen Versuchen wurde das Blut als Impfstoff immer im Endstadium der Erkrankung entnommen. Zirkuliert aber das Virus im Blute nur in einem relativ frühen Stadium der Krankheit, d. h. wenn das prämonitorische Fieber den höchsten Punkt erreicht hat?

Impfstoff	Versuchstier	Körpergewicht	Geimpfte Blutmenge	Impfmethode	Resultat
von einem mit fixem Virus Stamm E geimpften Kaninchen bei 41,7° C Fieber	Meerschw.	420 g	5,0 ccm	intramuskulär	(—) bis nach 60 Tagen
	dgl.	370 „	13,0 „	dgl.	(—) dgl.

(Versuchszeitdauer 25. Juni bis 28. Aug. 1919.)

Impfstoff	Versuchstier	Körpergewicht	Geimpfte Blutmenge	Impfmethode	Resultat
von einem mit fixem Virus Stamm E geimpften Kaninchen bei 41,3° C Fieber	Meerschw.	440 g	20,0 ccm	intramuskulär	(—) bis nach 60 Tagen

(Versuchszeitdauer 20. Juni bis 28. Aug. 1919.)

Versuch mit Straßenvirus.

Versuch VII. Als Impfstoff wurden ca. 15 ccm Herzblut, das von einem Lyssakranken (3 Std. nach dem Tode) steril entnommen waren, benutzt. Das davon gewonnene Straßenvirus machte damals ein mittelgroßes Kaninchen durch subdurale Impfung binnen ca. 17 Tagen krank:

Versuchstier	Körpergewicht	Geimpfte Blutmenge	Impfmethode	Resultat
Kaninchen	1530 g	1,0 ccm	intramuskulär	(—) bis nach 3 Monaten
„	1700 „	1,0 „	„	(—) dgl.
„	2200 „	2,0 „	„	(—) „
„	1450 „	2,0 „	„	(—) „
„	1400 „	3,0 „	„	(—) „
„	1800 „	3,0 „	„	(+) nach 47 Tagen

(Versuchszeitdauer 10. Febr. bis 15. Mai 1913.)

Eines dieser Tiere, dem 3 ccm Blut injiziert waren, litt nach 47 Tagen an stiller Wut und ging nach Verlauf einiger Tage ein. Die Hirnsubstanz des erkrankten Kaninchens war infektiös und Negrische Körperchen wurden darin nachgewiesen.

Versuch VIII. Ein Meerschweinchen wurde mit einer noch größeren Menge Blut vom Straßenvirus geimpft, um bessere Erfolge zu erreichen. Das Straßenvirus, Stamm Y, war von einem Lyssakranken gewonnen; die Inkubation dauerte bei subduraler Impfung etwa 13 Tage.

Das Straßenvirus Stamm Z wurde von einem Hunde gewonnen; die Inkubation beträgt bei einem subdural geimpften Kaninchen etwa 17 Tage. Das Blut wurde am Endstadium der Erkrankung dem Kaninchen entnommen.

Impfstoff	Versuchstier	Geimpfte Blutmenge	Impfmethode	Datum	Resultat
von dem mit Stamm Y subdural geimpften Kaninchen No. 28	Meerschw. (K.G. 760 g)	8,0 ccm	intramuskulär	20. Juni bis 9. Sept. 1919	(—) bis nach 70 Tagen
dgl.	Meerschw. (K.G. 770 g)	12,0 ccm	dgl.	dgl.	(—) dgl.
von dem mit Stamm Z subdural geimpften Kaninchen No. 29	Meerschw. (K.G. 690 g)	28,0 ccm	„	23. Juni bis 9. Sept. 1919	(—) „
von dem mit Stamm Z subdural geimpften Kaninchen No. 37	Meerschw. (K.G. 470 g)	20,0 ccm	„	25. Juni bis 9. Sept. 1919	(—) „
von dem mit Stamm Z subdural geimpften Kaninchen No. 38	Meerschw. (K.G. 520 g)	10,0 ccm	„	29. Juni bis 9. Sept. 1919	(—) „
von dem mit Stamm Z subdural geimpften Kaninchen No. 38	Meerschw. (K.G. 740 g)	0,2 ccm	subdural	29. Juni bis 9. Sept. 1919	(—) „
dgl.	5 Mäuse (8—10 g)	je 1,0 ccm	intramusk.	dgl.	(—) „

Versuch IX. Das benutzte Blut wurde einem erkrankten Kaninchen auf dem Höhepunkt des prämonitorischen Fiebers entnommen:

Impfstoff	Versuchstier	Geimpfte Blutmenge	Impfmethode	Datum	Resultat
vom Kaninchen mit dem Straßenvirus Stamm Y bei 41,4° C Fieber	Meerschw.	15,0 ccm	intramuskulär	26. Juni bis 9. Sept. 1919	(—) bis nach ca. 70 Tagen
dgl.	Meerschw. (600 g)	10,0 ccm	dgl.	26. Juni bis 9. Sept. 1919	(—) dgl.
vom Kaninchen mit dem Straßenvirus Stamm Z bei 40,7° C Fieber	Meerschw. (825 g)	10,0 ccm	„	28. Juni bis 9. Sept. 1919	(—) „
dgl.	Meerschw. (770 g)	15,0 ccm	„	28. Juni bis 9. Sept. 1919	(—) „

Wie ersichtlich, habe ich unter verschiedenen Bedingungen nach dem Lyssavirus im Blute gesucht, und zwar bei fixem Virus und Straßenvirus. Als Versuchstiere wurden nach Konradi Meerschweinchen benutzt und auch Mäuse, die noch leichter an Lyssa erkranken, waren nicht ausgeschlossen.

Doch konnte ich beim Straßenvirus nur in einem Falle das Virus im Blute nachweisen. Der bessere Erfolg Konradis dürfte vielleicht durch einen anderen Faktor verursacht worden sein, und Meerschweinchen und Maus erkrankten gewiß leichter an Lyssa, aber es ist sehr schwierig, mit dem Blut der Erkrankten immer dieses Versuchstier krank zu machen.

Nachdruck verboten.

Ueber die fusospirilläre Assoziation bei Otitis media.

[Aus dem Institut für Pilzforschung (Prof. Plaut) und der Ohrenstation (Prof. Thost) des Eppendorfer Krankenhauses.]

Von Dr. **Hartwich,** Hamburg.

In Bd. 83 H. 7 dieser Zeitschrift findet sich eine kurze Notiz von A. Plaut über das Vorkommen der fusospirillären Assoziation im Mittelohreiter. Ich bin in der Lage, aus den zahlreichen Untersuchungen, die Herr Prof. Thost in unserem Institut anstellen läßt, einen neuen Fall mitzuteilen, der bisher am genauesten untersucht und nach mancher Richtung hin beachtenswert ist.

Das Nativpräparat von dem aus der rechten Paukenhöhle bei der Operation gewonnenen Eiter einer 27-jähr. Pat. (mit Lues in der Anamnese) zeigte massenhaft Spirochäten und fusiforme Stäbchen neben grampositiven Diplokokken. Um über den primären Ort der Infektion Aufschluß zu bekommen, wurde sofort bei der Pat. ein Abstrich von der etwas geröteten, rechten und linken Tonsille gemacht, der rechts massenhafte, links weniger Spirochäten und fusiforme Stäbchen zeigte. Aus

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

dem Tubensekret konnte dagegen die fusospirilläre Assoziation nicht mit Sicherheit nachgewiesen werden. Es fanden sich wohl Stäbchen im Präparat, die aber nicht bestimmt als fusiforme angesprochen werden konnten. Der stark fötide Eiter aus der Paukenhöhle wurde weiter auf Blutplatte verarbeitet und ergab Reinkultur von Pneumokokken. Auf Loeffler-Nährboden wuchsen keine Diphtheriebazillen. Es war auch keine Vermehrung der nur anaërob wachsenden fusiformen Bazillen festzustellen. Allerdings zeigte auch die anaërobe Kultur (Tarozzi-Bouillon mit Pferdeserum) nach 4 und 7 Tagen weder Vermehrung der Spirochäten und fusiformen Stäbchen, noch der Pneumokokken.

Zur Lösung der Frage, ob die Pneumokokken bei der Infektion eine führende oder sekundäre Rolle spielten, wurden 0,3 ccm einer 24-stünd. 1-proz. Traubenzuckerbouillon-Kultur der Pneumokokken einer weißen Maus subkutan über der Schwanzwurzel injiziert. Die Maus zeigte am nächsten Tage keine Veränderung und blieb auch weiter gesund. Da die Virulenz der Pneumokokken durch die Kultivierung abgenommen haben konnte, wurde eine zweite Maus mit 0,5 ccm einer frisch bereiteten Eiter-Bouillonaufschwemmung geimpft. Diese Aufschwemmung war von einem Wischer von der Operationswunde beim ersten Verbandwechsel gewonnen. Das Nativpräparat (Färbung mit 1 : 10 verdünnter Karbolfuchsinlösung 1 Min. lang ist zu empfehlen) dieses stark fötid riechenden Wischers, zeigte massenhafte Spirochäten und fusiforme Stäbchen, während Diplokokken nur noch in geringer Menge vorhanden waren. Auch diese zweite Maus zeigte am nächsten und den folgenden Tagen keine Veränderungen, so daß man daraus schließen muß, daß es sich um für Mäuse avirulente Pneumokokken gehandelt haben muß.

11 Tage nach der Operation wurde ein erneuter Abstrich von den Tonsillen gemacht. Es zeigten sich rechts reichliche, links nur ganz vereinzelte Spirochäten und fusiforme Stäbchen. Auch an den Wischern, die mit Sekret von der Operationswunde getränkt waren, war zu dieser Zeit die fusospirilläre Assoziation noch nachweisbar, nahm dann allmählich ab und verlor sich im Laufe der nächsten Tage ganz, was wahrscheinlich auf die energische Behandlung der Wundhöhle mit Jodoformpulver und die nunmehr durch die Operation erzielten aëroben Verhältnisse zurückzuführen ist. Einige Tage später waren auch an den Tonsillen keine Spirochäten und fusiforme Stäbchen mehr nachweisbar.

Nun trat bei der Pat. noch eine Komplikation in Form einer Meningitis hinzu. Allerdings zeigte die erste Untersuchung des Lumbalpunktates im Dunkelfeld keine Zellvermehrung und keine Bakterien, auch war die Pandy-Reaktion negativ, aber schon das 2. Punktat war sehr stark eiterhaltig. Das Nativpräparat ergab sehr viele polynukleäre Leukozyten, wenig Lymphozyten, keine Bakterien, auch keine Tuberkelbazillen. Bei der weiteren Verarbeitung auf Blutplatten zeigte sich, daß außer Verunreinigungen das Punktat steril war. Es wurde vom Lumbalpunktat noch eine Zuckeragargußplatte gemacht, auf der sehr vereinzelte, wetzsteinförmige Kolonien wuchsen. Sie erwiesen sich mikroskopisch als grampositive Diplokokken und bei der Weiterkultivierung auf Blutplatte und Zuckerbouillon als weiße Staphylokokken, müssen also als Verunreinigung betrachtet werden.

Der Zustand der Pat. hatte sich inzwischen verschlimmert, und da man Verdacht auf einen Gehirnabszeß hatte, wurde eine zweite Operation

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

gemacht. Man fand aber bei dieser keinen krankhaften Befund. Die Pat. entfieberte nach der Operation rasch[1]).

Interessant bei diesem Fall ist der Befund der fusospirillären Assoziation im Mittelohreiter. Sie ist von der Mundhöhle, in der sie nachweisbar war, durch die Tuba Eustachii ins Mittelohr gelangt. Welche Rolle sie bei der Ohrenerkrankung gespielt hat, läßt sich nicht mit Sicherheit behaupten. Anzunehmen aber ist, daß die Otitis durch die fusospirilläre Assoziation ungünstig beeinflußt worden ist. Selbstverständlich soll damit nicht gesagt sein, daß die Anwesenheit der für Mäuse avirulenten Pneumokokken im Mittelohr nicht eine primäre Rolle gespielt haben kann.

Was die Aetiologie der Meningitis anlangt, so wird man bei dem vollkommen negativen Befund der aëroben Kultur darauf hingeführt, Anaërobier als Ursache anzuschuldigen (vielleicht die fusospirilläre Assoziation). Leider konnte keine anaërobe Kultur des Lumbalpunktates gemacht werden.

Die frühere Lues bei der negativen Wassermann-Reaktion im Blut und Liquor der Pat. als ätiologischen Faktor für die Meningitis heranzuziehen, halte ich nicht für berechtigt[2]). Ich möchte aber bei dieser Gelegenheit darauf hinweisen, daß mit Lues Behaftete sehr dazu neigen, eine Mischinfektion mit dieser Symbiose zu erwerben, und es dürfte sich wohl lohnen, darauf zu achten, ob gerade bei Luetikern sich die fusospirilläre Assoziation bei Otitis media häufiger diagnostizieren läßt als bei luesfreien Patienten.

Ohne direkte mikroskopische Untersuchung des Eiters läßt sich die Symbiose natürlich nicht nachweisen und entgeht jedem, der sie überspringt und gleich zur Kultur schreitet. Das Nativpräparat ist also, ganz abgesehen von seiner großen Wichtigkeit für die Kontrolle der Kulturen, für die Möglichkeit einer schnellen bakteriologischen Diagnose und Prognose, schon wegen der Möglichkeit, sonst diese wichtige Symbiose zu übersehen, für alle Ohreiteruntersuchungen unerläßlich.

Nachdruck verboten.

Ueber die Art der Begattung bei Pferdebandwürmern, speziell bei Anoplocephala mamillana (Mehlis).

Von Dr. **Rudolf Becker** (Uelzen).

Mit 1 Figur im Text.

Ein sehr auffallendes Charakteristikum der Anoplocephala-Arten ist die mit der Kürze ihrer Glieder zusammenhängende unilaterale und quere Anordnung ihrer Geschlechtsorgane. Diese beginnen sich schon unmittelbar hinter dem Scolex, in den ersten erkennbaren Gliedern, anzulegen und erreichen zuerst im männlichen Geschlecht, bald darauf auch im weiblichen Teil ihre völlige Reife, während die hinteren Glieder in der Hauptsache fertige Geschlechtsprodukte enthalten bzw. völlig steril sind.

---

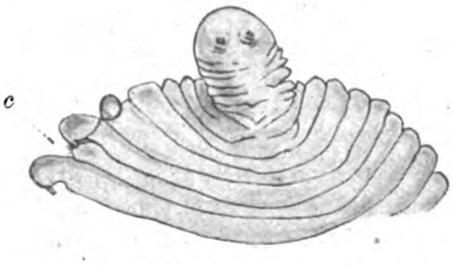
[1]) Nähere Angaben über die klinische Seite dieses Falles finden sich in einer demnächst von Dr. Evers im Archiv für Ohrenheilkunde erscheinenden Arbeit.

[2]) Nachtrag bei der Korrektur: Der Liquor zeigte bei einer im Mai vorgenommenen Untersuchung einen stark positiven Wassermann. Es handelte sich aber doch wohl um eine Meningitis auf luetischer Basis.

Spezielle Angaben über die Entwicklung der Geschlechtsorgane bei Anoplocephala magna (Abildgaard) sind in der ausführlichen Arbeit von Balß (1908) enthalten; über die Art der Begattung bei dieser Cestodengruppe liegen jedoch bisher keine Beobachtungen vor.

Auch bei A. mamillana findet man in der Mitte des linken (genitalen) Seitenrandes jeder Proglottis, etwas dorsalwärts verschoben, die ziemlich große Geschlechtsöffnung (= Porus genitalis), welche in einen geräumigen, mit der eingestülpten Körperkutikula ausgekleideten Vorhof (= Atrium genitale) führt. An ihrem Grunde liegt die Geschlechtskloake, die Eingänge zu den männlichen und weiblichen Organen, und zwar liegt die Mündung des Cirrusbeutels, welche einen kräftigen Schließmuskel aufweist, genau vor dem mit einer hier besonders dicken Kutikula versehenen Anfangsstück der Vagina. Flächenschnitte lassen einen schmalen Zwischenraum zwischen beiden erkennen, der sich nach Art einer Papille ein wenig in die Kloake vorwölbt. Dies finden wir vor Beginn der geschlechtlichen Tätigkeit des betreffenden Gliedes.

Mit Beginn derselben, d. h. vom 6. oder 7. Gliede an, wird die Papille aus dem Porus genitalis hervorgestülpt, und ragt nun mitsamt einem großen Teil des umgewendeten Cirrusbeutels als ein glockenförmiges Gebilde über den linken Seitenrand hinaus. Am äußersten Ende bemerkt man den fadenförmigen Cirrus. Bei einigen der folgenden Proglottiden kann sogar der ganze distale Cirrusbeutelabschnitt herausgetrieben sein und erscheint als ein Schlauch von mehr als 3-facher Proglottidenlänge, welcher sich peripher verjüngt und in eine gleichmäßig feine, mit Stacheln besetzte Spitze ausläuft. Diese ist zugleich hakenartig nach hinten gekrümmt, ein Verhalten, das schon aus Dujardins Abbildung (Taf. G_2) hervorgeht, und richtet sich damit direkt gegen den Porus genitalis des nächstfolgenden Gliedes. Wir sehen zugleich, daß dieses Glied nur mit dem Atrium ausgestülpt ist, also das Eindringen des erigierten Cirrus unmittelbar erwartet; ein Cirrus ist hier nicht zu sehen, wie an den übrigen Gliedern.



Anoplocephala mammillana. Skolex und vordere Proglottiden, die beiden vorletzten in copula (*c*).

Daß sich tatsächlich die Begattung in der gedachten Weise vollzieht, haben mir spätere Befunde mehrfach bestätigt. Immer erscheint zunächst zwischen den aufgewölbten Rändern des Porus der fadenförmige Cirrus, dem dann allmählich der ganze distale Teil des Cirrusbeutels nachfolgt. Dieser beschreibt am 10. oder 11. Gliede mit der Spitze einen Halbkreis nach hinten, bis er Porus und Vagina des folgenden, also ein wenig älteren, Gliedes erreicht. Das Einführen des Cirrus dürfte bei seiner reichen Bemuskelung nicht schwierig sein, kann aber nur mit dem vordersten, gleichmäßig starken Teil geschehen, da 2 am Grunde des Cirrus angebrachte Sperrhaken (Balß faßt sie als „Ventile“ auf)

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

ein weiteres Eindringen in die mit rauhen Kutikulaleisten besetzte Vagina verhindern.

Nach vollzogener Begattung erfolgt die Umbildung des männlichen Zustandes zum weiblichen, indem zugleich der Cirrus eingezogen wird und nur die Kloake ausgestülpt bleibt, wie es vorher bei der folgenden Proglottide der Fall war. Inzwischen wird das vorhergehende Glied zum begattungsfähigen Männchen.

Die geschilderten glockenförmigen Papillen sind in den späteren Gliedern noch anzutreffen, jedoch schon vom 13.—16. Gliede an bahnt sich die gänzliche Rückbildung der Begattungsorgane deutlich an. Kontraktion der Längsmuskeln der Kloake und Erschlaffung des Schließmuskels bewirken ein allmähliches Zurückziehen auf $^2/_3$ der Proglottislänge, bis schließlich, vom 21. Gliede ab, auch der Cirrusfaden unsichtbar wird und nur noch eine undeutliche Narbe an das frühere Vorhandensein der Geschlechtsöffnung erinnert.

So bekundet sich also schon äußerlich die an den inneren Organen so auffällige Protandrie. Diese bietet allein sichere Gewähr für eine Wechselbefruchtung. Denn wann würde wohl einmal der günstige Moment für den begattungsfähigen Cirrus eines Tieres eintreten, gerade auf eine zur Begattung geeignete Vagina eines anderen Exemplares zu stoßen, zumal diese Parasiten in der Regel nur vereinzelt im Darmkanal des Pferdes leben? Bei der raschen Entwicklung und dem schnellen Erlöschen der geschlechtlichen Funktionen gerade bei dieser Art wäre die Wahrscheinlichkeit für einen solchen Umstand ganz minimal, auch zeigt sich nirgends eine Einrichtung in den Sinnesapparaten, die ein aktives „Auffinden der Geschlechter“ herbeiführen könnte. Es bleibt nur dieser eine Weg offen, der immer gangbar ist, wenn nicht schon viel früher eine Selbstbefruchtung (Autofoecundatio) ohne Immissio cirri eintrat, wie es Zschokke (1888) als wahrscheinlich annahm.

Genau der gleiche Begattungsmodus dürfte sich bei A. perfoliata (Goeze) vorfinden, da auch hier die Umbiegung der ausgestülpten Geschlechtskloake nach hinten deutlich ist, wenn auch sonst die Verhältnisse weniger eklatant liegen. Ob auch bei A. magna gerade die Nachbarn kopulieren, das müssen noch Beobachtungen in flagranti lehren.

Literatur.

1) **Balß**, H., Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 91. 1908.
2) **Dujardin**, F., Histoire natur. des Helminthes. Paris 1845.
3) **Zschokke**, F., Recherches sur la structure anatom. et histol. des Cestodes. Genève. 1888.

Nachdruck verboten.

Eine Agar-Agar fressende Milbe.

Züchtung des Tyroglyphus longior (Gerv.) auf Agar.

[Aus dem bakteriologischen Institut der Universität Budapest (Direktor: Prof. Dr. Hugo Preisz).]

Von Dr. **W. Lénard**, Assistenten am Institut.

Gelegentlich der Umimpfung einiger ca. 3 Monate alten Kulturen von Proteus X 19, die wir aus einem fremden Laboratorium erhielten, bemerkte ich an der Oberfläche des Agars kleine Grübchen, Kanälchen und Vertiefungen mit bröckeligem Rand, die ganz den Eindruck machten, als wäre die Agarmasse an jenen Stellen durch Bakterien verflüssigt worden. Die nähere Untersuchung zeigte zwar eine Verunreinigung der Kultur durch fremde Bakterien, die aber, auf frischen Agar umgeimpft, den Agar nicht verflüssigten.

Als aber jene sonderbaren „verflüssigten“ Agarkulturen mit der Lupe näher betrachtet wurden, sah ich an der inneren Wand der Eprouvette ganz winzige, milbenartige Tierchen herumkriechen, die teils 6, teils 8 Beine zeigten und in den Agarvertiefungen mit der Verzehrung der Agarmasse beschäftigt waren. Auch konnte man an der Glaswand zerstreut kleine, braunschwarze, länglich-ovale Eier finden. Es war daher klar, daß die Milben sich innerhalb der Röhrchen vermehrten und vom Agar nährten.

Die Bestimmung der Art der fraglichen Milben hatte der Direktor der hiesigen staatlichen entomologischen Station, Herr Dr. Jablonowsky, in entgegenkommendster Weise übernommen und gefunden, daß es sich um Tyroglyphus longior (Gervais, 1844) handelt. Diese Milbe wurde bisher in den meisten tierischen und pflanzlichen organischen Substanzen: in verdorbenem Käse, Mehl, muffigem Heu, Selchfleisch und an Federn gefunden. Man fand sie weiter in der Roßhaar- und Meergrasfüllung von Möbeln, an getrockneten Kantharidenkäfern und in verschiedenen Drogen. Aber auch im menschlichen Stuhl, Urin und im Eiter von Hautläsionen wurde sie gefunden. Verbreitet ist T. longior in ganz Europa [1]).

In unserem Falle ist die Herkunft der Milben in der Agarkultur nicht mit voller Bestimmtheit festzustellen. Am wahrscheinlichsten dürfte es sein, daß die Tyroglyphi durch die ungenügend sterilisierten Pfropfen in das Innere der Glasröhren gelangt sind.

Es fragte sich nun, ob die Weiterzüchtung der Milben auf frischem Agar möglich ist und ob dazu die Gegenwart von Bakterien notwendig ist.

Die Züchtung von Tyroglyphus longior (Gerv.) wurde bisher von wenigen Autoren versucht. Laboulbène und Robin konnten sie in Gemeinschaft mit Tyroglyphus siro in Käse nicht züchten. Hingegen berichtet M. Fumouse über eine Zucht in einem Glasgefäß auf Kanthariden und A. D. Michael über Vermehrung im Mehl unter „entsprechenden“ Verhältnissen.

Meine Versuche gingen dahin, die Milben teils auf sterilem schrägen Fleischwasser-Peptonagar, teils auf verschiedenen Bakterienkulturen in Agarröhrchen zu züchten.

In den sterilen Agarröhrchen gelang die Weiterzüchtung nicht, die angesetzten Milben starben nach ca. 4—5 Tagen. Auf 2 der Bakterienkulturen hingegen (Proteus X 19 und B. coli commune) konnte man nach ungefähr 20 Tagen schon eine beträchtliche Anzahl von teils in

---

[1]) Diese Milbenart spielte in der wissenschaftlichen Polemik der 30er Jahre des vorigen Jahrhunderts eine bedeutende Rolle, indem Cross behauptete, diese Tierchen mittels Elektrizität erzeugt zu haben. Cross versuchte nämlich, durch Behandlung vulkanischer Gesteine und Chemikalien mit elektrischem Strom lebende Wesen zu erzeugen, und als er endlich an seinen Apparaten Milben herumkriechen sah, behauptete er, dieselben mittels elektrischen Stromes erzeugt zu haben. Turpin stellte diese Milbenart als neue Spezies hin und nannte sie Acarus horridus. Endlich stellte aber Robin fest, daß es sich um die schon bekannte Art des Tyroglyphus longior handelte.

Entwickelung begriffenen, teils vollentwickelten Exemplaren sowie zahlreiche Eier finden. Die Milben verzehrten die Agarmasse nur an Flächen, wo Bakterienrasen oder isolierte Kolonien wuchsen. An Stelle der Kolonien sah man kleine Löcher mit zernagtem Rande und bröckeligem Grunde.

Es scheint daher nicht ausgeschlossen, daß auch Krätzemilben auf entsprechend zubereitetem Agar züchtbar sind, und behalte ich mir diesbezügliche Versuche vor.

Zusammenfassung.

Es gelang, Tyroglyphus longior (Gervais) auf Fleischwasser-Peptonagar in Gegenwart von Bakterien zu züchten. Auf sterilem Agar vermehrten sich die Milben nicht.

Nachdruck verboten.

Die Elchrachenbremse Cephenomyia ulrichi Brauer und ihre Larvenstadien.

Von **Arminius Bau** in Bremen.

Mit 12 Lichtbildaufnahmen auf 2 Tafeln von Paul Lindner und Walter Dix.

Bekanntlich machen die parasitisch in Säugetieren lebenden Larven der Oestriden, welche man früher als selbständige Familie ansah, jetzt aber in die große Gruppe der Muscaridae Wytsman (Genera Insectorum, Diptera, 43. fascic. S. 1 (Brüssel 1906), oder in die Gruppe der Eumyidae (Cyclorrhapha, Schizophora, Schizometopa; Katalog der paläarktischen Diptera von Becker, Bezzi, Kertész, Stein, Budapest 1907), und zwar in die Familie der Tachinidae einreiht, drei Entwicklungsstadien durch, bevor sie die Puppenreife erlangen.

Die weibliche Cephenomyia, welche oovivipar ist, setzt ihre Brut an die Nüstern der Cervinen ab; die jungen Larven wandern als 1. Stadium in die Nasen- und Rachenhöhlen, wo sie sich festhaken. Nach der 1. Häutung bekommen sie die hinteren Stigmenplatten, verändern etwas ihre Form und die Art der Bedornung und gehen aus diesem 2. Stadium nach einer nochmaligen Häutung in das 3. Stadium über, in welchem sie bis zur Puppenreife heranwachsen.

Der Körper der Cephenomyia-Larven ist in 12 Segmente geteilt. Da bei den übrigen Oestriden, mit Ausnahme der Gattung Pharyngomyia, 11 Segmente, zumal bei den Hypodermen, gezählt werden, nimmt Friedr. Brauer[1]) auch bei den Larven dieser beiden Gattungen ebenfalls nur 11 Leibesringe an, um in Uebereinstimmung mit den Angaben früherer Autoren zu bleiben. Diesem Vorgehen kann ich mich nicht anschließen, zumal, da die alte Familie der Oestriden jetzt aufgelöst ist, und die Gattungen Cephenomyia wie Pharyngomyia zu den Calliphorinae gestellt werden, während die Oestrinae s. str., Hypoderminae und Gastrophilinae eigene Unterfamilien der Tachinidae bilden, die Gastrophilinae selbst von Ernst Girschner[1]) sogar nicht in die Familie der Tachinidae, sondern in die der Anthomyidae eingereiht werden.

---

[1]) Brauer, Friedrich, Monographie der Oestriden. Wien 1863. S. 190.

Das Material zu meinen Untersuchungen an Cephenomyia ulrichi Brauer verdanke ich der Güte des Herrn Präparator A. Möschler in Rossitten, Kurische Nehrung.

Die Larven des 1. bisher noch nicht beschriebenen Stadiums waren im September 1912 und am 6. Okt. 1919 gesammelt; solche des ebenfalls noch nicht beschriebenen 2. sowie des 3. Stadiums fand A. Möschler am 15. Mai 1919 in einem verendeten, schwachen Elchhirsch. Da es nur einige 20 Larven — übrigens in verschiedenen Größen und Altersstufen — waren, können diese kaum schuld sein, daß der Elchhirsch krank war; es müßte denn sein, daß einige ins Gehirn oder sonstwohin geraten waren; denn, daß sich die Larven nicht bloß ansaugen, sondern auch einbohren, konnte Möschler recht gut sehen. Eine der größten Larven war über die Hälfte ihrer Länge in den weichen Teilen am Ausgang der Nasenhöhle zum Rachen eingebohrt, während die übrigen nur mit den Mundhaken sich festhielten. Merkwürdig ist es, daß sich die Larven in verschiedenen Entwicklungsstadien befanden, denn wenn die Flugzeit auch von Ende Mai bis Ende August dauert (nach Brauer September), so fand Möschler doch bei den zahlreichen, von ihm früher im September untersuchten Elchköpfen stets nur Larven einer Größe, und zwar die des 1. Stadiums.

Eine der größten von Möschler gefundenen Larven verpuppte sich, das Tönnchen lieferte indessen keine Fliege.

Beschreibung der Larven[2]).

In meiner Beschreibung entspricht das 1. Segment oder der Kopfring der Larven dem „vorderen“ Abschnitt des Kopfringes früherer Autoren, das 2. Segment dem „hinteren“ Abschnitt des Kopfringes, das 3. Segment dem 2. Ring, das 4. dem 3. usf.

Larven des 1. Stadiums.

Fundzeit September—Oktober. Länge der Larven 1,9 bis 3,3 mm.

Gestalt (Bild 1, natürliche Größe) spindelförmig, Vorder- und Hinterende zugespitzt. Oberseite gewölbt, Unterseite mehr oder minder konkav, selten fast flach. Anzahl der Segmente 12, der 1. bis 4. Leibesring nicht so scharf voneinander abgegrenzt als die folgenden, doch ist z. B. in Bild 2 die Gliederung der 4 ersten Segmente deutlich zu erkennen. Der 1., der Kopfring, ist am kleinsten, der 2. beträchtlich breiter, die folgenden nehmen bis zum 6. Ringe (dem 5. der früheren Autoren), welcher der breiteste ist, allmählich an Breite zu, um sich dann wieder zu verjüngen, so daß der letzte Ring am kleinsten, immerhin aber noch größer als der Kopfring ist.

Jeder Ring ist mit Chitinleisten, der Quere nach angeordnet, besetzt, auf denen feine, steife Dornen oder Börstchen stehen, die man bei 140-facher Vergrößerung deutlich erkennt. Die mittleren Ringe tragen 12—18 solcher Chitinstreifen, die vordersten und letzten Ringe weniger. Diese Chitinstreifen sind auf den Bildern 2, 3, 5 und 6 gut

---

[1]) Illustr. Wochenschr. f. Entomol. I. 1896.

[2]) Die meisterhaften Mikrophotogramme, sowie die „Hellschattenaufnahmen“ No. 1, 8, 9, 11 sind von Herrn Prof. Dr. Paul Lindner, Berlin, No. 12 von Herrn Oberlehrer Walter Dix Bremen aufgenommen. Beiden Herren danke ich auch an dieser Stelle für ihre große Mühewaltung aufs verbindlichste.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

zu sehen. Der letzte Ring trägt an der Unterseite hinten einen Kranz von nach vorwärts gekrümmten stärkeren Dornenhaken (Bild 6 u. 7). Der Hakenkranz besteht wenigstens aus 15, meist aus 17 bis selbst 22 solcher nach vorwärts gekrümmten Dornen, welche gelbbräunlich gefärbt sind und anscheinend dazu dienen, der jungen Larve eine Rückwärtsbewegung zu ermöglichen, falls dieselbe an einen ihr nicht zusagenden Ort gelangt ist.

Der Kopfring trägt die 2 fast halbkugeligen Fühler und die Mundhaken (Bild 2 u. 3). Bild 2 ist eine Aufnahme in der Vergrößerung 68:1 der natürlichen Larve, Bild 3 eine solche 125:1 der in Kalilauge 1:2 mazerierten Larve, um das Bild durchsichtiger zu machen. Zum Vergleich dieser Photographie Paul Lindners gebe ich in Bild 4 die Kopie einer Darstellung des Kopfendes von Cephenomyia trompe (L.) 100:1 nach Arvid Bergman[1]). Die Imagines wie die Larven von Cephenomyia ulrichi Brauer und trompe (L.) sind einander ziemlich ähnlich, so daß ein Vergleich im Bild auch der Larven nicht unangebracht ist. Bei der Bergmanschen Abbildung sperren die Mundhaken etwas mehr auseinander als bei unserem Bild. Dieser Unterschied rührt aber nur daher, daß bei dem Bergmanschen Bild das Objekt etwas stärker gedruckt war, als bei der Aufnahme von Paul Lindner; im Leben und bei der frisch präparierten Larve sind die Spitzen der Mundhaken nicht nach außen, wie es die Bilder zeigen, sondern nach unten gewendet.

Die Mundhaken sitzen mit einem Gelenk etwas exzentrisch nach außen auf einer flachen, oben offenen, an den Rändern etwas zackigen Schale; diese ist mit ihrer unteren, ausgezogenen Spitze auf dem verbreiterten Ende eines Chitinzwischenstücks, welches dem Kopf eines menschlichen Oberschenkels ähnelt, nur aber etwas zackig ausgebildet ist, ebenfalls exzentrisch, jedoch nach innen eingelenkt. Beim Pressen des mikroskopischen Präparates verschieben sich die Verhältnisse etwas, so daß im Bild 3 die exzentrische Stellung der Mundhaken zur „Schale" nicht so scharf wiedergegeben werden konnte.

Das Chitinzwischenstück, etwas heller braun als die dunklen Mundhaken gefärbt, setzt sich nach hinten in einen kurzen, faserig verlaufenden Anhang — zur Verbindung mit den Muskeln — und in einen längeren, sich stark verbreiternden Anhang fort, welcher meist in drei sich schließlich faserig zerteilende Wurzeln ausläuft. An diese setzen sich ebenfalls Muskeln an. Im Bild 3 konnte wegen der teilweisen Ueberdeckung die Zerfaserung des Schlundgerüstes in 3 Wurzelstränge nicht deutlich wiedergegeben werden.

Betreffs event. vorhandener Atmungsorgane am Hinterleibsende, den Stigmenplatten der erwachsenen Larve entsprechend, sagt S. H. Scheiber[2]), daß eine Stigmenöffnung oder Stigmenplatte bei den Cephenomyien im 1. Stadium (untersucht wurde C. rufibarbis Meigen) am hinteren Leibesende fehlt, daß anstatt derselben sich zu beiden Seiten der Aftermündung 2 kleine, mehr oder weniger vorstreckbare und einziehbare, stümpfkegelige Fortsätze befinden, von denen man im Innern die 2 seitlichen Haupttrachenstämme ausgehen sah. Drückt man die Larven[3]), so treten aus dem letzten Ring die 2 Tracheenstämme etwas vor; — Brauer hat aber das Vorschieben der Tracheen nie gesehen, und gibt nur die Ansicht Scheibers wieder.

---

[1]) Entomol. Tidskr. Stockholm. Jahrg. 20. 1899. S. 133. Taf. 4. Fig. 4.

[2]) Sitzungsber. d. Kaiserl. Akad. d. Wissensch. Wien. Bd. 14. 1861. S. 29.

[3]) **Brauer**, Fr., Monographie der Oestriden. Wien 1863. S. 188.

Auch Arvid Bergman (l. c. S. 150) konnte etwaige einziehbare Tracheen bei der jungen Larve von Cephenomyia trompe (L.) nicht bemerken.

Um wenigstens bei C. ulrichi Br. zu einem feststehenden Ergebnis zu kommen, bat ich Herrn Prof. Lindner, das Hinterleibsende der Larven im 1. Stadium im Bilde festzuhalten, nachdem ich selbst bei direkter mikroskopischer Untersuchung bei 140-facher Vergrößerung keine Spur der nach Scheiber erwähnten, auf Atmungsorgane deutenden Einrichtungen entdecken konnte. Bild 5 gibt das Hinterende der Larve von oben gesehen in 68 facher Vergrößerung wieder, Bild 7 dasselbe von unten im Verhältnis 125:1, und Bild 6 die vorher in Kalilauge 1:2 mazerierte Larve. Sämtliche Bilder mußten, wie es auch mein geäußerter Wunsch war, unter starker Pressung des Objektes aufgenommen werden. Man sieht in keiner Abbildung das Hervortreten von Tracheenstämmen. In Abbild. 5 könnte man solche in den 2 hellen, gegen das Ende zusammenlaufenden Streifen vermuten, doch ist diese Zeichnung nur in Lichtreflexen begründet. Die in Kalilauge durchsichtig gemachte Larve beweist die Abwesenheit solcher, doch jedenfalls mit Chitinsubstanz ausgekleideter Atemröhren, und in Bild 7 vermissen wir jede Andeutung davon.

S. H. Scheiber[1]) meint: „Es ist . . . wahrscheinlich, dass alle Oestridenlarven im embryonalen Zustand durch zwei mehr weniger lange Fortsätze, die man als Tracheenkiemen[2]) auffassen könnte, athmen, und dass die Thierchen, nachdem sie zur Welt gekommen sind, und sich um die Fortsätze herum die Anlage der porösen Schichte der Stigmenplatte zu bilden angefangen hat, jene Fortsätze verlieren und als Ueberreste derselben der häutige Theil der Stigmenplatten durch's ganze Leben zurückbleibt."

Diese Ansicht erscheint mir doch sehr der Nachprüfung auch bei Cephenomyia rufibarbis Meigen erforderlich. Die eigentümliche Bildung der hinteren Atemröhren noch in der Eihülle oder eben nach dem Verlassen derselben, welche nach den Beobachtungen Brauers, Bergmans und nach meinen zahlreichen Untersuchungen an jungen Larven der Elchrachenbremse nicht bemerkt werden konnte, hat physiologisch gar keinen Zweck, denn im Mutterleibe wird der Embryo auch ohne Zutritt des Luftsauerstoffes ernährt, und die kurze Zeit zwischen dem Absetzen der Brut und dem Einwandern derselben in die ihnen zusagenden Nahrungsgebiete der Nasen- und Rachenhöhlen läßt eine solch schnelle Rückbildung der am Hinterleibsende gelegenen, von Scheiber angenommenen Atmungsorgane nicht zu.

Schneidet man den letzten Hinterleibsring ab und legt ihn mit der Schnittfläche auf den Objektträger, so sieht man auch bei 140-fach. Vergrößerung keine Andeutung von Stigmenplatten. —

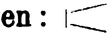
Zur weiteren Untersuchung wurden schon etwas größere Larven des 1. Stadiums von etwa 3 mm Länge in alkoholischer Kalilauge, bestehend aus 1 Gew.-Teil Kaliumhydroxyd und 4 Maßteilen Alkohol von 85 Gew.-Proz., 3—4 Std. mazeriert, bis sie genügend durchsichtig erschienen. Die Lösung wurde dann bis auf einen geringen Rest ab-

---

1) Sitzungsber. der Kaiserl. Akad. d. Wiss. Wien. Bd. 14. 1861. S. 30.

2) Bekanntlich sind ja die Embryonen aller Thiere, so lange sich dieselben im Mutterleibe befinden, wasserathmende Thiere.

gegossen und der letztere mit Essigsäure von 25 Proz. schwach angesäuert, so daß die Larven nunmehr in einer alkoholischen Lösung von essigsaurem Kalium konserviert waren.

Bei 140-facher Vergrößerung sieht man dann bei einigen, aber nicht bei allen Individuen, beiderseits des Darms selten im 9., öfter im 10. oder 11. Leibesring, bzw. an der Grenzfläche dieser Segmente, chitinartige Bildungen, welche, wenn das Präparat durch das Deckglas zufällig wenig gedrückt war, sich als 2 fast trapezförmige, mit der breiteren Grundfläche nach hinten gerichtete Tuben darstellen. Ist das Präparat beim Auflegen des Deckglases etwas verschoben, so daß die Ränder der Segmente nicht parallel liegen, und zugleich stärker gedrückt werden, so erscheinen diese Gebilde als ovale oder rundliche Flächen, welche nicht gleichmäßig chitinisiert sind. Man kann sich eine Vorstellung von dem verschiedenen Aussehen machen, wenn man eine dünne Papierhülse in der Form eines abgestumpften Kegels auf den Tisch legt und sie von oben betrachtet, sie wird dann das Bild eines Trapezes zeigen: . Drückt man nun die Hülse von hinten nach vorn zusammen, so erscheint die Grundfläche des Kegelstumpfes als Oval: O oder selbst als Kreis: ○.

Diese Gebilde sind noch zart chitinisiert; das dürfte neben der erst wohl späteren Anlage dieser Gebilde beim Wachstum der Larve, der Grund sein, weshalb man sie nicht in allen Larven des 1. Stadiums findet, — wenn nämlich die Tiere zu lange in der Kalilauge lagen, welche allmählich diese Formen auflöst und somit zum Verschwinden bringt.

Ich deute die erwähnten Gebilde für die Anlage der späteren Atmungs-Stigmenplatten am Leibesende der Larven des 2. und 3. Stadiums. Ihre Anlage erfolgt vielleicht im 10. Segment; wenn wir die Andeutung derselben bereits im 9., oder auf der Grenze des 9. und 10. Leibesringes sehen, so kann diese Lage durch Verschiebung bei Pressung des Objektes hervorgerufen sein.

In hervorragender Deutlichkeit sehen wir diese Bildung in P. Lindners Bild 7 bei einer Larve des 1. Stadiums, welche nicht in Kalilauge mazeriert war. Durch einen glücklichen Umstand sind hier bei der von mir empfohlenen starken Pressung des Präparates die in der Bildung begriffenen Stigmenplatten in die photographische Ebene gelangt, so daß sie in einer kaum zu wiederholenden Weise festgehalten wurden.

Die Größe dieser in der Anlage begriffenen Stigmenplatten beträgt bei den in Kalilauge mazerierten Larven etwa 0,05—0,07 mm; doch konnten wegen der auflösenden Eigenschaft der Kalilauge hier nur die schon etwas derber chitinisierten Anteile gemessen werden. Im Bild 7, welches durch Kalilauge nicht verändert war, beträgt der Durchmesser der Stigmenplatten-Anlage etwa 0,16 mm. Es sei an dieser Stelle nochmals darauf hingewiesen, daß die hingebende Bereitwilligkeit P. Lindners, welcher, meinen Wünschen entsprechend, stets neue Aufnahmen machte, es mir ermöglichte, die 1. Anlage der Stigmenplatten nicht nur in Worten zu schildern, sondern unzweifelhaft im Bilde festzuhalten.

Wir dürfen vielleicht die Annahme machen, daß sich bei der 1. Häutung der Larven die in der Bildung begriffenen Stigmenplatten bis an das Analende des Körpers verschieben. Während nach meiner Ansicht die Larve des 1. Stadiums amphipneustisch war oder wahrscheinlicher wie ein Embryo mit genügend sauerstoffhaltigen Säften ver-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

sorgt wurde (denn in den Atmungsorganen des Elches, wie anderer Tiere, herrscht stets frische Luftzufuhr, welche auch die Gewebesäfte der Nasen- und Rachenhöhle mit Sauerstoff versieht), tritt bei stärkerem Wachstum der Larve, bei dem dadurch bedingten vermehrten Stoffwechsel, die Notwendigkeit für eine direkte, wenn auch beschränkte Sauertoffatmung ein.

Larven des 2. Stadiums.

Unter dem mir zur Verfügung stehenden Material befanden sich 3 Exemplare dieses Stadiums. Fundzeit 15. Mai 1919. Gestalt leicht keulenförmig, am vorderen Ende dicker als am hinteren. Länge der Larven 7,8—8 mm. Größte Breite derselben 2,6—2,9 mm.

Die Breite (Dicke) nimmt vom 1.—4. Ring schnell zu, bleibt bis zum 7. Ring etwa gleichmäßig und nimmt dann allmählich ab, so daß die Breite am 11. Segment 1,9—2,0 mm beträgt. Der 11. Ring ist der längste mit 1,4 mm. Man erkennt in diesem Stadium stets deutlich 12 Segmente.

Bedornung, Oberseite: Am Vorderende des 2.—4. Ringes je 2 Reihen Dornen, des 5.—9. Ringes 2—3 Reihen, des 10. Ringes 1 Reihe, und am Hinterrande des 11. Ringes einige Dornenwarzen. Unterseite: Am 2.—11. Ring 2—3 Reihen Dornen.

Die Stigmenplatten sind fast kreisrund mit etwas zackigen Rändern; man kann ihre Form auch als ein sphärisches Dreieck bezeichnen.

Die „Hellschattenaufnahmen" P. Lindners geben im Bild 8 und 9 die Form dieses Stadiums in natürlicher Größe wieder; Bild 8 stellt die Ansicht von oben, Bild 9 die von der Seite dar. Bild 10 zeigt uns in 125-fach. Vergrößerung die Struktur der Stigmenplatten des 2. Stadiums. Der helle „Mondhof" beiderseits der Mitte ist die „falsche Stigmenöffnung", die wahren Oeffnungen der Luftkanäle sind hier in einer so kristallklaren Weise ausgeprägt, wie man sie bei direkter Beobachtung in 140-fach. Vergrößerung kaum sehen und noch weniger beschreiben kann.

Im Vergleich mit der Stigmenplattenanlage des 1. Stadiums, Bild 7, bemerken wir die Gleichmäßigkeit der Anordnung, doch ist hervorzuheben, daß im Bild 7 die hellen Teile des Bildes 10 dunkel erscheinen, also die „falsche Stigmenöffnung" ist im Bild 7 durch einen dunklen Schatten angedeutet, die Oeffnungen der Luftkanäle sind ebenfalls dunkel, während diese Teile im Bild 10 hell erscheinen. Der Unterschied beruht in der mikrophotographischen Aufnahme; Bild 7 ist bei auffallendem Licht, Bild 10 bei durchfallendem Licht aufgenommen.

Leider gelang es nicht, die hinteren Stigmenplatten der Larven des 3. Stadiums in gleicher Weise zu photographieren, da diese stärker chitinisiert und vollkommen undurchsichtig sind.

Larven des 3. Stadiums.

Fundzeit 15. Mai 1919. Die Larven dieses Stadiums sind bereits von Friedr. Brauer[1]) beschrieben und abgebildet. Da aber Brauer nur 11 Segmente annimmt, während, wie schon eingangs erwähnt, die Larven in 12 Ringe geteilt sind, da ferner Arvid Bergman[2]) auf

---

1) **Brauer, Friedr.**, Monographie der Oestriden. Wien 1863. S. 201. Taf. IX. Fig. 7, 7a, 7b.

2) **Bergman, Arv.**, Entomol. Tidskr. Bd. 20. 1899. S. 154.

Grund der Abbildung Brauers eine nicht ganz zutreffende Bestimmungstabelle der Larven aufstellt, gebe ich von neuem eine Beschreibung der Larven.

Gestalt der jüngeren Larven keulenförmig, der erwachsenen fast walzenförmig, am vorderen Ende ein wenig dicker. Bild 11 zeigt eine fast erwachsene Larve in natürlicher Größe nach einer „Hellschattenaufnahme" P. Lindners, Bild 12 eine solche vollständig erwachsene, nach einer Photographie von Walter Dix im Verhältnis $^5/_4:1$, und Bild 13 das Hinterleibsende der im Bild 11 dargestellten Larve nach einer Aufnahme von P. Lindner, und zwar ein wenig verkleinert, etwa im Verhältnis $^4/_5:1$.

Länge der größten Larve 40 mm, Breite am 6. und 7. Ring, welche die breitesten sind, 10 mm. Oberseite gewölbt, Unterseite flach oder konkav. Kopfring klein, breiter als lang. An ihm sitzen die nach unten und schwach nach außen gerichteten Mundhaken, darunter die Mundöffnung, und oberhalb derselben die kugelig-kegelförmigen Fühler, welche an der Basis zusammenstoßen und mit der Spitze nach auswärts gerichtet sind. Letztere trägt je 2 kleine Ocellenringe, von denen der untere, nach der Bauchseite zu befindliche oft auswärts, der obere etwas nach einwärts steht. Die Ocellenringe, welche man auf dem Bild 12 mit der Lupe erkennen kann, stehen nahe beisammen, bei einigen Larven berühren sie sich und erscheinen fast punktförmig.

Der 2. Ring trägt oben vorn einen Kranz von Dornenwarzen und hinter diesem ein viereckiges, nacktes, in der Mitte durch eine seichte Längsfurche geteiltes Feld, welches Friedr. Brauer das Scheitelfeld nennt. Da ich, im Gegensatz zu den früheren Autoren, das deutlich getrennte 1. und 2. Segment nicht als einen zusammenhängenden Körperring betrachten kann, ist der Name „Scheitelfeld" nicht mehr angebracht; ich schlage daher für diesen, für die Bestimmung einiger Arten wichtigen Abschnitt den Namen „Nackenfeld" vor. Dieses Nackenfeld ist etwas breiter als lang.

An der hinteren Seite des 2. Ringes liegen seitlich von oben die sehr kleinen, punktförmigen Vorderstigmen, und zwar dicht vor der Einschnürung des 3. Segmentes.

Das 2. Segment trägt jederseits 3 Seitenwülste, welche sich auch auf den folgenden Ringen vorfinden. Während das 4.—7. oder 8. Segment in der Länge ziemlich gleich bleiben, nehmen die folgenden Ringe an Länge allmählich zu, der 10. ist erheblich länger und der 11. Ring ist der längste.

Der 12. Ring ist wiederum beträchtlich kürzer; er trägt die in einer seichten Grube liegenden, hinteren Stigmenplatten und den nach unten und hinten gerichteten sog. Nachschieber, welcher (mit den Worten Brauers) „aus einem oberen, queren, wulstigen, nackten Theil besteht, der jederseits ein kleines Knötchen trägt[1]), und unteren kegelförmigen bedornten Theil, welcher beim Kriechen der Larve auf der Erde als eigentlicher Nachschieber funktioniert".

Diesen Nachschieber, welchen Brauer in der allgemeinen Uebersicht der Cephenomyia-Larven mit 2 Knötchen besetzt bezeichnet, hat er in der besonderen Beschreibung der Larve des 3. Stadiums von Cephenomyia ulrichi nicht ausdrücklich hervorgehoben. In der

---

1) Von mir gesperrt. Bau.

Abbildung1) lassen sich diese Knötchen zwar erkennen; sie sind aber etwas undeutlich wiedergegeben, so daß Arvid Bergman (l. c.) als ein Unterscheidungsmerkmal der Larven von C. ulrichi Brauer und C. trompe (L.): „Nachschieber auf der oberen Seite ohne2) Warzen (nach Brauer, Taf. IX. Fig. 7a)“ hervorhebt.

Die Untersuchung zahlreicher Larven des 3. Stadiums von Cephenomyia ulrichi Brauer ergab, daß der Nachschieber bei den ausgewachsenen Larven 4 Erhöhungen erkennen läßt, von denen 2 in der Mittellinie, nahe benachbart, die beiden anderen seitlich liegen. Bei etwas jüngeren Larven sind die Mittelhöcker klein oder nicht wahrnehmbar.

In der photographischen Wiedergabe des Analendes der Larve läßt sich in Bild 13 die höckerige Erhebung, wenigstens auf der linken Seite, vom Beschauer aus gesehen, unzweifelhaft erkennen; auch im Bild 12 findet sie sich angedeutet.

Die hinteren Stigmenplatten sind fast halbkreisförmig, richtiger nierenförmig. Ihre innere Seite ist senkrecht gestellt, so daß das obere und das untere Ende beiderseits gleich weit voneinander entfernt ist. Die Innenseiten sind demnach, von der „falschen Stigmenöffnung“, welche den nierenförmigen Ausschnitt bedingt, abgesehen, parallel gerichtet. Bild 13 zeigt die Anordnung der hinteren Stigmenplatten.

Die Bedornung der Larven läßt sich insofern nicht eindeutig wiedergeben, weil die Dornenwarzen nicht in geradlinigen Reihen stehen, sondern meist durch Senkung oder Erhöhung der vom Beobachter angenommenen Horizontallinie unregelmäßig verlaufen und öfter auch Lücken aufweisen. Je nach der Auffassung wird man also in manchen Fällen 3 oder 4 Reihen Dornen annehmen können oder selbst 5 zählen wollen.

Da ich nach Möglichkeit die annähernd vollzähligen Dornenreihen als maßgebend ansah, komme ich zu einem etwas abweichenden Ergebnis von den Angaben Friedr. Brauers.

Da die Reihen der Dornenwarzen, wie schon erwähnt wurde, nicht schnurgerade verlaufen, sondern unregelmäßig alternierend gestellt sind, ist die Auffassung, wie viel Reihen man zählen soll, einigermaßen der Willkür des Beobachters preisgegeben.

Bedornung auf der Oberseite bei den größeren Larven. Auf der Mitte des 6. bis 8. Segmentes sind die Dornenreihen in der Regel durch kahle Stellen unterbrochen.

Segment No.	Anzahl der Dornenreihen bei einzelnen Larven									Im Durchschnitt
2 am Vorderrand	2—3	3	3	2	2	3	3	3	3	2—3
3 „ „	2	2	2—3	3	2	2	2	2	3	2—3
4 „ „	2—3	2—3	2	2—3	3	2	3	3	2—3	2—3
5 „ „	3—4	3	3	4	4	3	4	4	3—4	3—4
6 „ „	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
7 „ „	4	4	4	4	4	4	5	4	4	4—5
8 „ „	4	4	3—4	4	4	4	4	4	4	3—4
9 „ „	4	3	2	4	4	4	3—4	3—4	3—4	2—4
10 „ „	4	3	2	4	4	4	3—4	3—4	2	2—4
11 „ „	0	0	3 einzelne Dornen	4 einzelne Dornen	0	0	0	0	0	0; selten einzelne Dornen
11 am Hinterrand	2	2	2	1—2	2	2	2	2	2	meist 2

---

1) Brauer, Friedr., Monographie der Oestriden. Wien 1836. Taf. IX. Fig. 7a.

2) Von mir gesperrt. Bau.

Bedornung auf der Unterseite.

Segment No.	Anzahl der Dornenreihen bei einzelnen Larven									Im Durchschnitt
2	2	2	2	2	2	3	3—4	2	3	2—4
3	2—3	2	1—2	1—2	2	1	1	2	2	1—3
4	3—4	2—3	2	2	3	3	3	3	2	2—4
5	4	3—4	3	3—4	4	3—4	4	3	4	3—4
6	6	6	5	6	5	5	6	5	6	5—6
7	6	6	6	6	5	6	7	5	6	5—7
8	5—6	5	6	6—7	6—7	6	6	6	7	5—7
9	5—6	5	6	6—7	6—7	6	6	6	6—7	5—7
10 Reihen weniger dicht	6	5	5	6	7—8	6—7	6—7	5	6	5—8
11 meist nur einzelne Dornen	5	5	5	6	5	6	5	5	6	5—6

Ich habe die Dornenreihen auf der Mitte der Oberseite gezählt, seitlich, nach den Seitenwülsten zu, und auf diesen tritt noch 1 oder 2 Reihen von Dornenwarzen hinzu.

Wie es ja bereits bekannt ist, geht die Farbe der Dornen sowie der Stigmenplatten mit dem Alter der Larve von Hellgelbbraun bis schließlich in Schwarzbraun über. Auch die „falsche" Stigmenöffnung wechselt beim Größerwerden der Larve ihre Farbe.

In der folgenden Tabelle gebe ich einige Beobachtungen hierüber an.

Länge der Larve in mm	Farbe der falschen Stigmenöffnung	Länge der Larve in mm	Farbe der falschen Stigmenöffnung
9	weiß	28	weiß
10	"	28	"
11	"	31	"
11	"	31	"
12	"	31	"
27	"	34,5	rotbraun
27,5	"	40	schwarz
28	"		

Das Puppenstadium. Eine der von A. **Möschler** gefundenen Larven verwandelte sich in ein Tönnchen. Das Insekt schlüpfte aber nicht aus, vermutlich, weil die Larve noch nicht den völligen Reifezustand zur Verpuppung erlangt hatte. Nach der Verpuppung kontrahiert sich die Larve bekanntlich stark. Ich gebe die Maße des Tönnchens mit 22 mm Länge und 10,5 mm Breite an, möchte aber hervorheben, daß die Länge eines normalen reifen Tönnchens jedenfalls weniger betragen wird, trotzdem Fr. **Brauer** (Monogr. d. Oestriden, S. 203) die Länge mit 23 mm, die Breite mit 10 mm bei einer ebenfalls vorzeitig verpuppten Larve erwähnt.

Die Imago. Die ausgebildete Fliege ist von Friedr. **Brauer**[1]) im weiblichen Geschlecht ausführlich beschrieben. A. **Möschler**[2]) gab die Unterschiede der Männchen und Weibchen an. Beide Geschlechter sind fast gleich groß, die Weibchen nur ganz wenig größer. Beim Weibchen ist das Hinterleibsende etwas runder als beim Männchen. In der Färbung stimmen die gefangenen Pärchen fast genau überein. Das Gelbbraun am Kopf war vielleicht etwas fahler und das Weiß am Hinterleibe etwas ausgedehnter beim Weibchen.

---

1) **Brauer, Friedr.** l. c. 1863. S. 199.

2) **Möschler, A.**, Schrift. d. physik.-ökon. Gesellsch. Königsberg. Bd. 52. 1911. S. 275.

Zu dieser Beschreibung füge ich noch die Zahlenangaben hinzu für die Stirnbreite, welche beim Männchen 2,0—2,1 mm beträgt, beim Weibchen 2,1—2,2 mm. Der Hinterleib der Männchen maß in der Breite 8,0 bis 8,1 mm, der der Weibchen 8,5—8,8 mm; und zwar bei 2 von A. Möschler in copula gefangenen Pärchen, welche mir zur Verfügung standen.

Die Flügellänge betrug bei den Weibchen 13,6—14,1 mm, bei den Männchen 13,0—13,5 mm.

Stellen wir die Frage, wie sich Cephenomyia ulrichi Brauer von den nächstverwandten Arten unterscheidet, so lassen sich für die Imago sichere Kennzeichen angeben, auch für die Larven des 3. Stadiums; dagegen stoßen wir bei dem Vergleich der früheren Stände, der Larven des 1. und 2. Stadiums auf die überraschende Tatsache, daß genaue Beschreibungen dieser Entwicklungszustände von den in Deutschland und in der Alten Welt häufiger vorkommenden Arten Cephenomyia stimulator Clark, rufibarbis Meigen und Pharyngomyia picta Meigen überhaupt nicht vorliegen.

Nur die neugeborene Larve von C. rufibarbis Meigen ist in Brauers Monographie als flach keulenförmig gekennzeichnet; die Larve sieht durch die reihenweise gestellten mikroskopisch kurzen Borsten der Quere nach fein punktiert und liniiert aus. Ueber Cephenomyia stimulator Clark und Pharyngomyia picta Meigen herrscht Unsicherheit, welcher Art die beobachtete Form angehörte.

Die Larven des 1. Stadiums von Cephenomyia trompe (L.) sind nach Arvid Bergman 1—3 mm lang und ziemlich gleich breit. Das 5. (nach unserer Auffassung das 6.) Segment ist am breitesten. Sie sind mit zahlreichen, in Querreihen sitzenden, dornenartigen Borsten besetzt, welche ihnen ein geändertes Aussehen verleihen. Auf dem letzten Ring bilden sie gleichsam eine Krone von an den Spitzen gekrümmten Dornen. Das Schlundgerüst und die Mundhaken sind gut entwickelt.

Nach dieser im Auszug wiedergegebenen Beschreibung Arvid Bergmans, der ich eine Abbildung des Kopfendes beifüge (Bild 4), läßt sich die Larve des 1. Stadiums der C. ulrichi von der C. trompe nicht unterscheiden.

Für das 2. Stadium gibt Brauer an, daß die kleinen, halbmondförmigen Stigmenplatten bei Cephenomyia stimulator schief gestellt sind, ihr oberes Ende ist weiter voneinander entfernt, als das untere, bei den anderen Arten dagegen senkrecht. Läßt sich also hierdurch C. stimulator von den verwandten Arten unterscheiden, so weisen letztere unter sich so viele Aehnlichkeiten auf, daß sie schwerlich auseinanderzuhalten sind, wenn man den Fundort der Larve nicht kennt. Da aber Cephenomyia rufibarbis und Pharyngomyia picta beide im Edelhirsch schmarotzen, da ein verirrtes Vorkommen von Oestriden auf sonst fremden Wirtstieren auch statthat[1], ist die Fundstelle allein nicht maßgebend für die Bestimmung der Art.

In betreff des 3. Stadiums sind die Unterschiede zwischen Pharyngomyia picta, Cephenomyia stimulator und rufibarbis zwar genügend scharf; bei C. ulrichi und trompe bestehen aber so große Aehnlichkeiten, daß es schwer fällt, diese beiden Arten auseinanderzuhalten. Der von Arvid Bergman bereits weiter oben erwähnte Unterschied, daß der Nachschieber bei C. ulrichi auf der oberen Seite glatt, ohne Warzen sei, trifft nicht zu. Da die Bedornung der Larven auch ziemlich ähnlich ist, dürfte nur der von Arvid Bergman gefundene Unterschied maßgebend sein, daß die hinteren Stigmenplatten bei C. ulrichi ganzrandig (nach Bergmann „plana“), bei C. trompe an den Kanten ziemlich wellig oder geschweift sind (i kanten något vågiga).

---

[1] Hoffmann, Konr., Sitzungsber. d. Niederrhein. Ges. f. Natur- und Heilk. Bonn. A. 1908. S. 21.

Von der Aufstellung einer sicheren Bestimmungstabelle der Larven auch im 3. Stadium muß ich absehen, da eine solche erst dann möglich ist, wenn die Larven der 4 Arten des Genus Cephenomyia erneut verglichen werden.

Nach der von mir etwas veränderten Tabelle **Arvid Bergmans** ergeben sich folgende Kennzeichen:

Larven im 3. Stadium mit einem Kieferpaar (Mundhaken). Stigmen am letzten Ringe freiliegend. Antennen an der Basis zusammenstehend
Genus Cephenompia Latreille.
1. Nackenfeld („Scheitelfeld“ **Brauers**) fast quadratisch, wenig länger als breit . 2
Nackenfeld rechteckig, viel länger als breit: C. stimulator Clark.
2. Hintere Stigmenplatten am inneren Rande parallel. 3
Hintere Stigmenplatten nach der Bauchseite zu divergierend: C. rufibarbis Meigen.
3. Hintere Stigmenplatten eben, ganzrandig: C. ulrichi Brauer.
Hintere Stigmenplatten an den Rändern ziemlich wellig oder geschweift: C. trompe (L.).

Für die Imagines gilt auch nach erneuter Prüfung der 4 Arten die von **Brauer** aufgestellte Bestimmungstabelle, die im Auszug hier wiedergegeben sei:

Genus Cephenomyia Latreille.
1. Bart fuchsrot; Rückenschild vor der Naht olivenbraun behaart: C. rufibarbis Meigen.
Bart gelblichgrau, Rückenschild vor der Naht gelblich behaart 2
2. Schenkel schwarzhaarig: C. ulrichi Brauer.
Schenkel außen mit gelben Haaren 3
3. Hinterleib gelbhaarig, zweiter bis vierter Ring oben an der Seite fuchsrot behaart: C. stimulator Clark.
Hinterleib gelb und schwarz gemischt haarig, zweiten bis vierter Ring oben an der Seite schwarz behaart: C. trompe (L.).

Die Lebensweise der Cephenomyia ulrichi Brauer ist zwar insofern bekannt, als diese Oestride in der Nasen- und Rachenhöhle des Elches oder Elentieres Alces alces (L.) im Larvenzustande schmarotzt, doch bedarf der schon eingangs dieser Abhandlung erwähnte Umstand, daß **A. Möschler** das fertige Insekt von Ende Mai bis Ende August erbeutete, in den von ihm im September, der Abschußzeit des Elches, zahlreich untersuchten und präparierten Köpfen des Elens stets nur Larven des 1. Stadiums bemerkte, noch der Aufklärung, da man doch annehmen muß, daß die bereits im Juni fliegenden Insekten ebenfalls ihre Brut absetzen. Das noch nicht geklärte „Stillstandstadium“ in der Entwicklung der Oestridenlarven[1]), welches sich allerdings auf Hypoderma bezieht, mag vielleicht auch hier eine Rolle spielen.

Im Gegensatz hierzu fand **A. Möschler** am 15. Mai 1919 die Larven in allen Größen; nach dem mir überwiesenen Material waren es drei Larven des 2. Stadiums, während die Larven des 3. Stadiums die Länge von etwa 9—40 mm zeigten.

Dieser Fall steht nun durchaus nicht vereinzelt da. Schon über Oestrus ovis L. bemerkte **Brauer**[2]): „Man findet meist kleine und große Larven gleichzeitig vor.“

Auch in der Nasenhöhle des Rentieres fand **Arvid Bergman**[3]) im April die Larven von Cephenomyia trompe (L.) in allen Entwicklungsstadien.

Bereits vor 200 Jahren wurde eine ähnliche Beobachtung in dem Bericht: „Vom Elend-Thier, und denen in dessen Gehirn befindlichen Bremsen, als der wahrschein-

---

1) **Brauer, Friedr.**, Verhandl. d. k. k. zool.-bot. Gesellsch. Wien. Bd. 62. 1892. S. 79—84.
2) **Brauer, Friedr.**, Monograph. d. Oestriden. 1863. S. 155.
3) **Bergman, Arvid**, Entomolog. Tidskr. Bd. 20. 1899. S. 150.

lichen Ursache der fallenden Sucht bey diesen Thieren"[1]) erwähnt. Der als Naturforscher auch anderweitig bekannte Probst M. Georg Andr. Hellwing in Angerburg berichtet: „dass ich mehr als 20. mahl wahrgenommen, wie in einem Elends-Kopffe eines frisch geschossenen Elends, deren sehr viele unseres Orts gefället worden, im Monat Augusto, eine generation der Bremsen sich findet, die durch die Nase vom Elends-Thiere herausgenieset werden. Der Kopff ist inwendig im Gehirn so voll, dass man sie herausscharren muss, je näher sie denen Nasenlöchern, ie vollkommener sind sie, ie tieffer sie aber im Kopffe stecken, ie unvollkommener sind sie, so gar, dass einige noch in ihren Involucris[2]), andre gar, wie kleine Maden, anzutreffen seyn."

Mag auch hier, der damaligen Zeit entsprechend, etwas Uebertreibung untergelaufen sein, so dürfen wir dem Bericht doch entnehmen, daß in dem frisch geschossenen Elch noch Larven, wie auch Puppen als Tönnchen bemerkt wurden. Die „herauszuscharrenden" Bremsen mögen ja im August — eine andere Art der Musciden gewesen sein, die sich, durch den Blutgeruch angelockt, eingefunden hatte. Eine nähere Beschreibung der „Bremsen" fehlt hier leider; erst J. G. Büttner[3]), Pastor zu Schlock in Kurland, gibt eine kurze Charakteristik des entwickelten Insekts.

Auffallend ist es, daß neben Maden auch Tönnchengruppen im Kopfe des Elches gefunden wurden; Friedr. Brauer[4]) gibt nämlich auch an, daß die Tonnenpuppe, die ihm vom Oberförster Ulrich zugestellt wurde, sich merkwürdigerweise in der Nasenhöhle eines alten verendeten weiblichen Elches vorfand.

Die naturgemäße Entwicklung der Oestridenlarven liegt doch in dem Vorgang, daß die reifen Larven das Wohntier verlassen, und sich in oder an der Erde an geschützten Plätzen verpuppen. Bei den im Reh und im Edelhirsch schmarotzenden Arten ist es wenigstens von Friedr. Brauer sicher nachgewiesen, daß die Verpuppung nach dem Abgang der Larven aus der Nasenhöhle in der Erde erfolgt.

Bezüglich der Rentierrachenbremse C. trompe (L.) erwähnt Arvid Bergman[5]), daß die Larven (wie bekannt) sich stark bei der Verpuppung zusammenziehen, indessen hat er von einer Verpuppung innerhalb der Nasen- und Rachenhöhle des Wirtstieres nichts berichtet. Auch dem Präparator A. Möschler, dem wir langjährige Beobachtungen über die Biologie der Elchrachenbremse, C. ulrichi Brauer, verdanken, ist ein derartiger Fall nicht vorgekommen.

Ich hege daher die Ansicht, daß der von Brauer festgelegte Fall der Verpuppung in der Nasenhöhle eine Ausnahme darstellt, weil die Larve durch den vorzeitigen Tod des Wirtes nicht mehr genügend Lebenskraft besaß, den natürlichen Ausgang aus ihrem Wohnbezirk zu finden.

Betreffs der Angabe Hellwings könnte man sich eine ähnliche Meinung bilden, denn da der frisch geschossene Elch zum Festmahl diente, wäre es immerhin möglich, daß sich einige reife Larven zur Verpuppung kontrahierten, bevor der Braten in der Küche zerlegt wurde.

Sehen wir von diesen und anderen etwas fragwürdigen Berichten ab, nach welchen auch ein General, der 1718 vor Riga lag, beim Festessen (in dem oben angeführten Bericht „Vom Elend-Thier") erwähnte, man hätte im Kopfe eines Elends, welcher vor einiger Zeit kurz vor dem Frühling[6]) „gefället" wäre, noch einige große Fliegen oder „Brumsen" gefunden, so müssen wir doch nach neueren Forschungen die Tatsache feststellen, daß im Herbst — wenigstens bei Cephenomyia ulrichi Brauer[1]) — nur ein Entwicklungsstadium der Larven vorkommt, daß im Frühjahr, nicht nur bei der Elchrachenbremse, sondern bei der Renntierrachenbremse C. trompe (L.), sowie bei dem entfernter stehenden Oestrus ovis Linné die Larven in verschiedenen Entwicklungsstadien anzutreffen sind.

---

[1]) Samml. v. Natur- und Med.- wie auch hierzu gehörigen Kunst- und Literat.-Gesch. Sommer-Quartal 1718. Breslau 1719. S. 1525.

[2]) In dem Tönnchen, Anmerkung des Ref.

[3]) Isis v. Oken. 1838. S. 361.

[4]) Brauer, Friedr., l. c. S. 202.

[5]) l. c. S. 151—152.

[6]) Die Abschußzeit der wenigen noch in Deutschland befindlichen Elche ist in der neueren Zeit der September.

Eine Erklärung für diesen Umstand fehlt noch völlig. In der Erforschung der Biologie der Oestriden — nicht nur der Rachenbremsen, sondern auch der Hypodermen, ich erinnere nur an die Angaben des Einwanderns der jungen Larve per os, wie sie von manchen Forschern vertreten wird — bleibt also noch viel zu tun übrig.

Allerdings stellen sich dem große Schwierigkeiten entgegen, da eine künstliche Züchtung der Oestriden nicht möglich ist. Die vorzeitig dem Wirtstier entnommene Larve geht fast immer zugrunde; nur durch einen sehr glücklichen Umstand gelang es Yngve Sjöstedt, eine reife Larve einer Nashornmagenbremse zur Entwicklung zu bringen und damit die Identität der Gattungen Gyrostigma Brauer und Spathicera Corti zu beweisen[2]).

Nach Carl Frings[3]) glückte die Aufzucht nur in ganz vereinzelten Fällen (über welche keine näheren Angaben gemacht werden), wenn nämlich zufällig mal eine zur Metamorphose reife Larve in die Hände des Züchters kam.

Frings macht den Vorschlag, die (vorzeitig dem Wirtstier entnommenen) Larven auf mit Gelatine- oder Eiweißlösung oder einer anderen Nährflüssigkeit getränkten Zeugstücken in Glasgefäßen im Thermostaten zu halten.

Gräfin Linden[4]) schlägt sterile bluthaltige Nährböden (Blutagar) vor. Die Behälter der Nährböden, in welche die Larven zu übertragen wären, müßen durch Watte verschlossen werden, so daß Ventilation möglich ist; und das Kondenswasser des Nährbodens würde die Larven vor dem Austrocknen schützen. Wenn erforderlich, könne der Nährboden aus dem Blute des Wirtstieres der Rachenbremse hergestellt werden.

Ich erwähne diese gut gemeinten Vorschläge, denn Züchtung von Tieren, und zwar von Amöben, ist auf künstlichem Nährboden[5]) ja schon gelungen, ich fürchte aber, der Laboratoriumsversuch wird bei den Oestriden mißglücken: erst die viel zeitraubendere Arbeit und Beobachtung in der freien Natur, verbunden natürlich mit Forschungen am Mikroskopiertisch, kann uns in manche noch ungeklärte Fragen der Biologie der Oestriden einen Einblick verschaffen.

Erklärung der Abbildungen.

Mit Ausnahme von Bild 4 stellen sämtliche Abbildungen die Larven der Elchrachenbremse Cephenomyia ulrichi Brauer dar.

Bild 1. Larve des 1. Stadiums in natürlicher Größe. (Aufnahme v. P. Lindner.)

Bild 2. Kopfende der Larve des 1. Stadiums, Vergr. 68-fach. Man erkennt am Kopfring die beiden halbkugeligen Fühler, die deutliche Gliederung auch der ersten vier Segmente, welche durch mit Borsten oder Dörnchen (am Rande der Figur sichtbar) besetzte Chitinleisten der Quere nach gestreift, während die Mundhaken und das Schlundgerüst nur als dunkle Schatten bemerkbar sind. (Aufnahme v. P. Lindner.)

---

[1] Nach A. Möschlers 14-jähriger Beobachtung.

[2] Bau, Arminius, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 48. 1908. p. 164, 165.

[3] Frings, Carl, Sitzungsber. d. Niederrhein. Ges. f. Natur- und Heilk., Bonn A. 1908. S. 27.

[4] Daselbst S. 28.

[5] Wenn den Amöben ihre natürliche Nahrung, die auf künstlichem Nährboden durch Hefekultur dargestellt war, geboten wurde.

Bild 3. Kopfende der Larve des 1. Stadiums. Die Larve war in Kalilauge (1 Gewichtsteil KOH, 2 Teile Wasser) mazeriert und somit durchsichtig gemacht. Vergr. 125-fach. Außer den Fühlern, der Gliederung der Larven in Segmente, welche die quer verlaufenden Chitinleisten tragen, treten sehr scharf die beiden Mundhaken, sowie der Aufbau des Schlundgerüstes hervor. (Aufnahme v. P. Lindner).

Bild 4. Kopfende der Larve des 1. Stadiums der Rentierrachenbremse, Cephenomyia trompe (L.), Vergr. 100-fach. Zum Vergleich mit der Larve von C. ulrichi. Kopie nach einer Abbildung v. Arvid Bergman.

Bild 5. Hinterleibsende der Larve des 1. Stadiums von der Rückseite. Vergr. 68-fach. Die der Quere nach verlaufenden Chitinleisten sind deutlich zu sehen, sowie am Rande der Figur die Börstchen, welche auf diesen Leisten stehen. Trotz starker Pressung des Objekts ist von einem Hervortreten der von S. H. Scheiber erwähnten Tracheenstämme nichts zu sehen. Die beiden nach dem Analring zu zusammenlaufenden hellen Streifen sind Lichtreflexe. (Aufnahme v. P. Lindner.)

Bild 6. Hinterleibsende der Larve des 1. Stadiums von der Bauchseite. Die Larve war in Kalilauge (1:2) mazeriert und somit durchsichtig gemacht. Vergr. 125-fach. Man erkennt am Analring den Kranz der nach vorwärts gekrümmten Dornen und die Chitinleisten der einzelnen Segmente. Von den in der Beschreibung zu Bild 5 genannten Tracheenstämmen ist gleichfalls nichts zu sehen. (Aufnahme v. P. Lindner.)

Bild 7. Hinterleibsende der Larve des 1. Stadiums von der Bauchseite. Vergr. 125-fach. Außer dem Kranz der nach vorwärts gekrümmten Dornen am Analring tritt hier deutlich die Anlage der hinteren Stigmenplatten hervor, welche sich an der Grenze des 9. und 10. Ringes befindet. Nicht in allen Larven des 1. Stadiums ist diese Anlage der Stigmenplatten zu bemerken, sondern vielleicht nur bei denjenigen, welche schon herangewachsen sind und kurz vor der ersten Häutung stehen. (Aufnahme v. P. Lindner.)

Bild 8. Eine Larve des 2. Stadiums, natürliche Größe, von der Rückseite. (Hellschattenaufnahme v. P. Lindner.)

Bild 9. Eine Larve des 2. Stadiums, natürliche Größe, von der Seite. (Hellschattenaufnahme v. P. Lindner.)

Bild 10. Die hinteren Stigmenplatten einer Larve des 2. Stadiums. Vergr. 125-fach. Bei durchfallendem Licht aufgenommen. In klarer Weise sieht man in der Mitte als hellen Mondhof die „falsche Stigmenöffnung“, sowie als weiße Flecken die Anordnung der wahren Oeffnungen der Luftkanäle. Im Gegensatz zu diesem Bild erscheinen die erwähnten Teile im Bild 7, erste Anlage der Stigmenplatte, dunkel, weil Bild 7 bei auffallendem Licht aufgenommen wurde. (Aufnahme v. P. Lindner.)

Bild 11. Eine Larve des 3. Stadiums in natürlicher Größe. (Hellschattenaufnahme v. P. Lindner.)

Bild 12. Eine vollständig erwachsene Larve des 3. Stadiums, Vergr. $^5/_4$: 1. Die Fühler, die Mundhaken, die Mundöffnung, die Bedornung der Segmente, sowie eine kleine Erhöhung auf der linken Seite (vom Beschauer aus) des Nachschiebers sind deutlich zu erkennen (Aufnahme v. Walter Dix.)

Bild 13. Das Hinterleibsende einer fast erwachsenen Larve, ein wenig verkleinert, etwa $^4/_5$: 1. Man sieht deutlich die Stigmenplatten, sowie an dem bedornten Nachschieber auch wulstige Erhöhungen (Aufnahme v. P. Lindner.)

Nachdruck verboten.

Versuche zum Nachweise von Schimmelpilzen im Mageninhalt der Leiche und der Entwicklungshemmung oder -förderung von Schimmelpilzen durch Mageninhalt als Nährbodenzusatz.

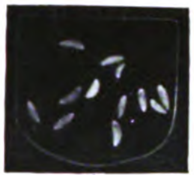
[Aus dem pathologisch-bakteriologischen Institut der kantonalen Krankenanstalt Luzern und aus dem pathologischen Institut der Universität Lausanne.]

Von Prof. Dr. **H. v. Meyenburg**, Lausanne.

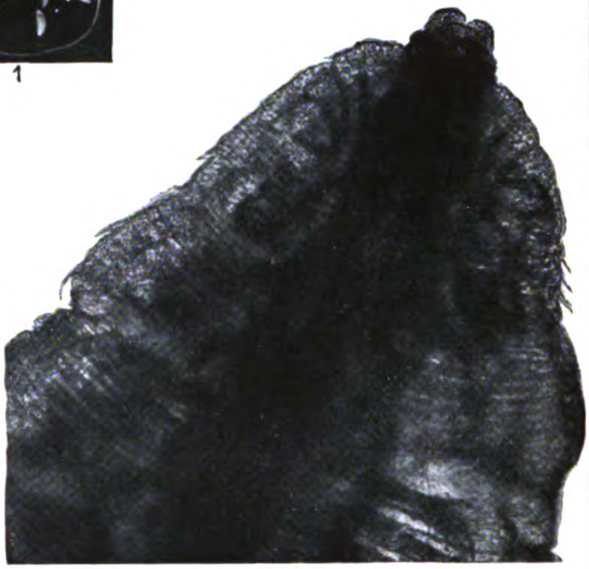
Die Beobachtung dreier Fälle von Schimmelpilzaffektionen der Magenwand (Frankfurt. Zeitschr. f. Pathol. Bd. 23) gab mir Veranlassung zur

Centralblatt für Bakteriologie Abt. I. Orig. Bd. 84.

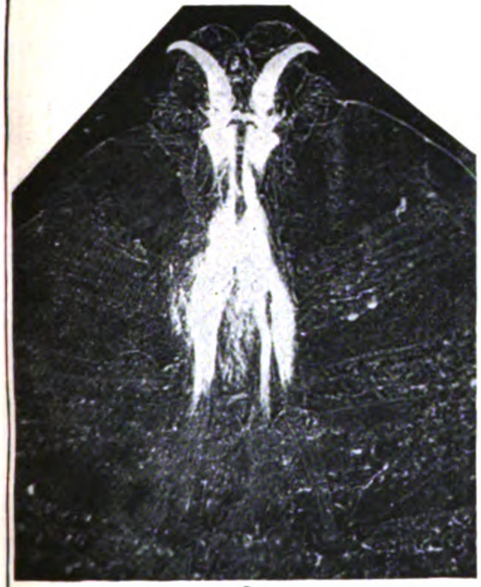
Arminius Bau, *Elchrachenbremse* Taf. I.



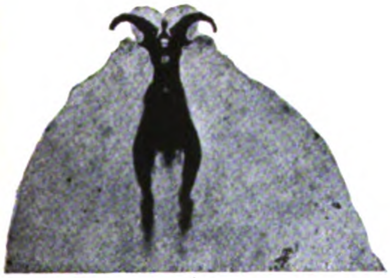
1



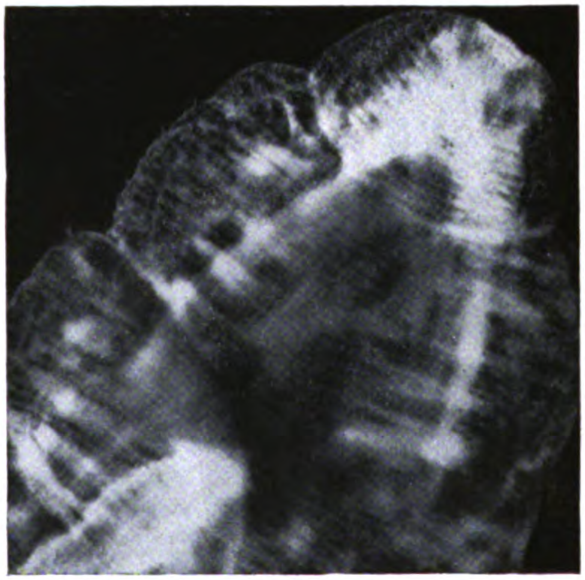
2



3



4

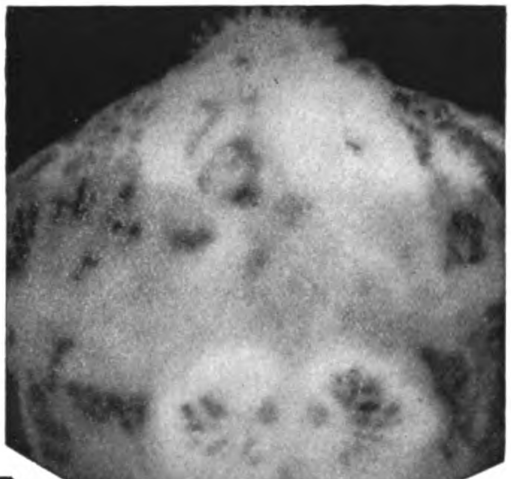


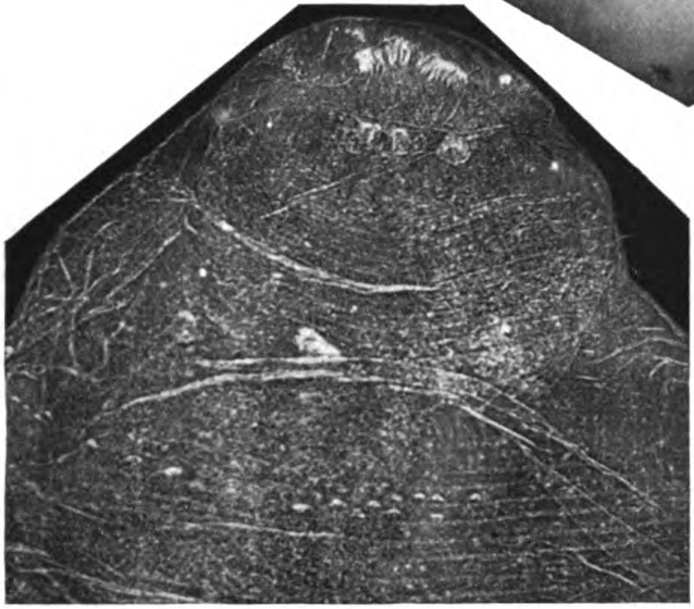
5

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

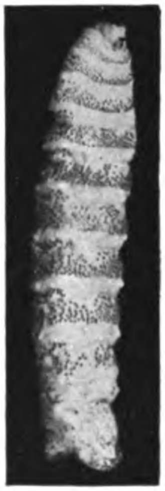
8

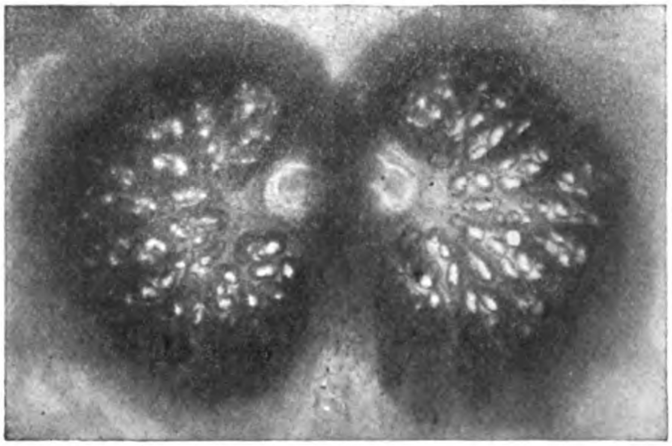
9


7


6

11


12


10

13

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Prüfung der Frage, ob und wie oft sich im Mageninhalt, der bei Sektionen gewonnen wurde, Schimmelpilze überhaupt und namentlich pathogene Arten, nachweisen lassen. Je nach dem Ausfalle der Versuche konnte man hoffen, Aufschluß über Bedingungen zu erhalten, die die Entstehung von Magenmykosen erleichtern.

Bei der allgemeinen Verbreitung der Schimmelpilze und ihrer Sporen in der Außenwelt durfte man erwarten, wie dies auch Plaut als natürlich voraussetzt, solche nahezu regelmäßig im Magen zu finden. — Pathogene Wirksamkeit entfalten Fadenpilze jedoch, soweit die bisher vorliegenden wenigen Beobachtungen ein Urteil in dieser Hinsicht zulassen, nur auf einem besonders vorbereiteten Terrain. Nekrosen, Erosionen und Ulzerationen anderer Art, offenbar häufig akut entstanden, begünstigen die Einnistung und die krankmachende Wirkung. Im Tierversuch gelang es mir freilich nie, auch nach Verabreichung sehr sporenreicher Nahrung, durch Quetschung usw. der Magenwand Schimmelpilzaffektionen hervorzurufen. Die Kaninchen gehen regelmäßig an einer Pneumonomykosis ein. (Meerschweinchen scheinen etwas widerstandsfähiger zu sein.) — Andererseits schien aber ein häufiges Vorkommen von pathogenen Schimmelpilzarten im Magen, das man zunächst anzunehmen geneigt war, doch wieder zweifelhaft, angesichts der Tatsache, daß Magenmykosen so selten sind, während Ulzerationen der verschiedensten Art am Sektionstisch recht häufige Befunde sind. — In Schnittpräparaten von geschwürigen Magenaffektionen dieser Art gelang es mir bisher nie, Pilzfäden nachzuweisen — außer natürlich bei eigentlichen Mykosen. Löhlein berichtet allerdings neuerdings über mehrere positive Befunde. Ich habe an anderer Stelle die Vermutung ausgesprochen, daß die Ernährungsverhältnisse hierbei vielleicht von Bedeutung sein könnten. Löhleins Untersuchungen wurden etwa in den Jahren 1916 bis 1918 ausgeführt, und meine 3 ersten, oben erwähnten Beobachtungen von Magenmykosen stammen aus dem Winterhalbjahr 1917—1918, in dem die Ernährungsverhältnisse auch in der Schweiz verhältnismäßig ungünstige waren. — Es mag hier noch erwähnt sein, daß in den beiden Fällen von Magenschimmel, bei denen der Nachweis der Art des Pilzes gelang (Löhlein, mein Fall I), Aspergillus fumigatus der Erreger war. In den anderen bisher beschriebenen Beobachtungen dieser Erkrankung mußte man sich mit mehr oder weniger begründeten Vermutungen begnügen. Gewöhnlich wurde — meist nach Anhören einer botanischen Autorität -- eine Mucor-Art angenommen.

Der Nachweis des Vorkommens von Schimmelpilzen im Mageninhalt der Leiche wurde in 30 beliebig gewählten Sektionsfällen versucht, unter denen auch eine ganze Anzahl verschiedener Magenerkrankungen vorkamen (Ca., Ulcus, Gastritis acuta und chronica). Der Mageninhalt wurde bei der Sektion in sterile Kolben aufgefangen und dann meist unmittelbar nach Beendigung der Sektion verimpft. Gelegentlich wurde auch Material direkt von der Magenwand abgestrichen und verarbeitet. — In einzelnen Fällen konnte die Verarbeitung erst am folgenden Tage vorgenommen werden. Der Kolben mit dem Mageninhalt wurde dann bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Daß zwischen dem Eintritte des Todes und der Sektion verschieden lange Zeit verstrich, mag nur der Vollständigkeit halber erwähnt werden. — Die Verimpfung erfolgte ausschließlich auf Platten mit Sabourauds Maltoseagar; gewöhnlich wurden 2 Platten in gleicher Weise beschickt. Anfänglich wurden 1—2 Oesen verimpft und, wie bei Stuhl-Isolierplatten, ausgestrichen. Da das

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Resultat aber stets negativ blieb, brachte ich später größere Mengen in isolierten Tropfen auf die Platten. Diese wurden dann nach 1, 2 oder mehrtägiger Bebrütung bei 37° kontrolliert.

Wenn ich von dem gelegentlichen Auftreten einzelner Randkolonien von Aspergillus fumigatus absehe, die hie und da, zweifellos durch Verunreinigung, entstanden, so war das Resultat in 29 von 30 Fällen negativ! In dem einen positiven Falle wuchs (außer Asperg. fum.?) Penicillium glaucum, und zwar deutlich von einem der übertragenen Tropfen ausgehend. Weiterzüchtung auf Sabouraud-Platten ergab schöne, typische Kolonien. — Es ist vielleicht kein bloßer Zufall, daß dieses positive Züchtungsergebnis mit dem Mageninhalt eines Diabetikers gelang, der im Coma gestorben war. Vielleicht hat der Zucker- und Säuregehalt des Blutes auch das Gedeihen der Pilze im Mageninhalt begünstigt. —

In den 29 anderen Fällen war, wie gesagt, das Resultat dieser Züchtungsversuche stets negativ. Ich war geneigt, hieraus den Schluß zu ziehen, daß Schimmelpilze und Sporen im Mageninhalt offenbar doch recht selten vorkommen, oder aber sehr rasch zugrunde gehen.

In dieser Annahme wurde ich aber durch eine weitere Beobachtung schwankend gemacht: Ich sezierte die Leiche eines jungen Mädchens und stellte dabei eine Magenaffektion mit metastatischen Leberabszessen fest, bei der ich nach meinen früheren Erfahrungen schon mit bloßem Auge wenigstens die Wahrscheinlichkeitsdiagnose einer Schimmelpilzerkrankung stellen konnte, die dann auch durch die mikroskopische Untersuchung von Schnitten des Magengeschwürs (und der Leber) bestätigt oder, genauer gesagt, auf Fadenpilzerkrankung präzisiert werden konnte[1]). Von dem Mageninhalt dieses Mädchens wurde reichliches Material auf 6 Platten von Maltoseagar verimpft — mit negativem Ergebnis!

Dieser Mißerfolg machte mich in der Beurteilung der übrigen negativen Züchtungsversuche etwas schwankend. Gewiß muß man die Frage offen lassen, ob die Art des angewandten Nährbodens gerade dem in Frage kommenden Pilz, dessen Art nicht bestimmt werden konnte, nicht zusagte; auch muß man sich sagen, daß in diesem Falle durch das Erbrechen, das mehrere Tage hindurch bestand, vielleicht vorhandene Keime in größerer Menge hinausbefördert worden waren, und daß es schließlich immer ein mehr oder weniger großer Zufall bleibt, ob man bei solchen Verimpfungen gerade die gesuchten Keime erwischt. — Aber das ändert nichts an der Tatsache, daß hier doch tatsächlich nach dem Tode noch ein verhältnismäßig reichliches Myzel aus der Magenwand in das Innere hereinwucherte. — Da also in diesem Falle die Wahrscheinlichkeit, Pilze oder ihre Sporen mitzuverimpfen, ziemlich groß war, glaube ich doch, aus dem fast durchweg negativen Resultat meiner Versuche den Schluß ziehen zu müssen, daß mit der angewandten Methode die gestellte Frage nicht gelöst werden kann.

Aeußere Verhältnisse hinderten mich, die Untersuchungen mit dieser und anderen Methoden weiterzuführen. Wenn ich mich dennoch zur Veröffentlichung der bisherigen Ergebnisse entschlossen habe, so geschah dies einerseits, weil derartige systematische Prüfungen bisher anscheinend noch nicht ausgeführt wurden, und andererseits, um etwaigen Nachuntersuchern von dem von mir beschrittenen Wege abzuraten. —

---

1) Der Fall wird in der Festschrift für Grawitz in Virchows Archiv veröffentlicht.

Nicht viel mehr Erfolg hatte ich auch mit Versuchen, die, mit den angeführten Untersuchungen parallel gehend, diesen zur Kontrolle und Ergänzung dienen sollten. Sie hatten zum Ziele den Nachweis der Hemmung (oder event. der Förderung), die der unfiltrierte Mageninhalt der Leiche als Zusatz zum Agarnährboden auf das Wachstum einer bekannten Schimmelpilzart ausübt. Als Pilz wurde ein menschenpathogener Stamm von Aspergillus fumigatus benutzt. Gleichzeitig wurde auch reiner Magenbrei, roh oder gekocht, auf seine Eignung als Nährboden für den Schimmel geprüft. Es war anzunehmen, daß der Magenbrei sowohl bei verschiedenen Erkrankungen des Magens selbst, als auch bei solchen anderer Organe oder des Gesamtorganismus, das Wachstum bestimmter Pilze in verschiedener Weise hemmen oder begünstigen werde. Bei eindeutigen Resultaten hätte man hoffen dürfen, Aufschluß über die eine oder andere Bedingung zu erhalten, die das Gedeihen von Schimmelpilzen im Magen und damit auch ihre Ansiedelung in der Magenschleimhaut, oder, mit anderen Worten, die Entstehung von Magenmykosen erleichtern. Daß äußere Momente, wie Traumen etc., nach den bisher vorliegenden Beobachtungen die krankmachende Wirkung von Schimmelpilzen im Magen unterstützen, ja vielleicht ganz wesentlich bedingen, darauf habe ich schon früher aufmerksam gemacht.

Die Untersuchungen wurden bei 20 von den oben verwendeten Fällen ausgeführt, und gewöhnlich wurde dabei folgendermaßen verfahren: Zu 6 ccm gewöhnlichem Agar wurden 3 bzw. 6 ccm steril entnommenen, unfiltrierten Mageninhalts zugesetzt, das Gemisch wurde 10 Min. im kochenden Wasser gehalten, um die im Magenbrei enthaltenen Keime im wesentlichen abzutöten, und dann in Platten ausgegossen. Auf diese Platten wurde dann von einer sporenreichen Kolonie von Asperg. fumigatus 1 oder mehrere Oesen verimpft und die Platten 24—48 Std. bei 37° bebrütet. Gleichzeitig wurde bei den meisten Fällen der Magenbrei ohne weiteren Zusatz, teils roh, teils nach 10 Min. langem Kochen als Nährboden in Schalen gebracht, mit Asperg.-Sporen beschickt und, gegen Austrocknung geschützt, bebrütet. Wenn nur wenig Material erhältlich war, wurde oft nur das eine oder andere dieser Verfahren angewandt. — Die Resultate habe ich in der Tabelle zusammengestellt. Viele Schlüsse lassen sich meines Erachtens aus den Ergebnissen nicht ziehen. In erster Linie scheint mir aus der Tabelle hervorzugehen, daß der rohe Magenbrei im allgemeinen einen recht schlechten Nährboden für Schimmelpilze darstellt. Auf gekochtem Mageninhalt gingen die Pilze in einigen Fällen etwas besser an; ein wirklich gutes Wachstum konnte indes nur 1mal festgestellt werden, und zwar in einem Fall von Miliartuberkulose, bei dem besondere Magenveränderungen nicht konstatiert wurden. — Andererseits hemmt der Magenbrei als Zusatz zu Agar das Gedeihen der Pilzkolonien in der Mehrzahl der Fälle nicht oder nicht wesentlich. Ein vollständiges Ausbleiben des Auskeimens der übertragenen Sporen konnte nur 3mal beobachtet werden. 1mal bei Phthise mit Darmtuberkulose und Peritonitis infolge Durchbruchs von Geschwüren (an einer Leiche mit vorgeschrittener Fäulnis), das 2. Mal bei Nephrose mit Herzhypertrophie, Venenthrombose und Lungeninfarkten. Bei diesem Falle wurde eine Gastrektasie mit chronischer Gastritis vermerkt. Der 3. Fall betraf eine Urämie nach Schrumpfniere tuberkulöser Natur.

Wie gesagt, glaube ich, irgendwelche Schlüsse aus den Versuchsergebnissen nicht ziehen zu können. Möglicherweise lassen größere

Versuchsreihen eher zu einem Resultat gelangen. Gleichlaufende chemische Untersuchungen über die Beschaffenheit des Mageninhaltes werden dabei unerläßlich sein. Meine Versuche mußten aus äußeren Gründen vorzeitig abgebrochen werden und können daher, namentlich was die 2. Versuchsreihe angeht, kaum einen anderen Wert beanspruchen als den von vorläufigen Vorversuchen.

Sekt. No.	Hauptsächliche Sektionsdiagnose	Besonderer Magenbefund	Zeit v. Tod bis Sektion Std.	Zeit v. Sektion bis zum Versuch Std.	Wachstum von Asperg. fumigatus auf 6 ccm Agar +			
					3 ccm	6 ccm	rohem	gekocht
					Mageninhalt			
25	Pneumonie, Atherosklerose, Schrumpfniere	—	18	—	+	+		
30	Erysipel, chron. Colitis	—	11	—	++	++		+
33	Encephalomalacie	—	20	—	+	+	+	+
45	Lungen- u. Darm-Tub., Peritonitis	—	38	48	—	—	—	—
48	Colon-Ca., Ileus	—	22	48	++	++	—	—
56	Magen-Ca.	Ca. ohne Stenose	20	24			—	
57	Br.-Pneumonie, Atherosklerose	Ulcus simplex, frisch	13	—			—	
58	Atherosklerose, Herzinsuffizienz	Stauungsgastritis	17	—			—	
61	Herzinsuffizienz	—	30	—	++	++	(+)?	(+)?
63	Miliartub., Pneumonie	—	16	—	++	++	—	++
65	Magen-Gallert-Ca.	Ca. ohne Stenose	45	—	++	++	—	—
66	Diabetes mellitus	—	23	—			+	
69	Hirnkontusion	—	16	—	+	+	+	+
72	Lungenphthise	Stauungsgastritis	52	24		+	—	—
84	Herzinsuffizienz	„	4	—	++	++	—	—
93	Miliartuberkulose	kleines Ulcus	5	48	++	++	+	+
97	Lungenabszeß	Gastritis chron., Ektasie	12	—	—	—	—	—
99	Urämie, tb. Schrumpfniere	Stauungskatarrh	18	48	—		—	(+)?
102	Traum. Hämothorax	Etat mamelonné	6	24	++	++	(+)?	+
135	Encephalomalacie	Stauungskatarrh	41	—	++	++	—	+

Literaturverzeichnis.

Plaut, Die Hyphenpilze. (Kolle-Wassermanns Handbuch.) — Löhlein, Virch. Arch. Bd. 227. — v. Meyenburg, Frankf. Zeitschr. f. Pathol. Bd. 23, und Virch. Arch., Festschr. f. Grawitz. 1920. — Bei beiden letzteren Autoren ausführlicher Literaturnachweis über Magenmykosen.

Nachdruck verboten.

Ueber Bakterientransport durch den Dampf bakterienhaltiger Flüssigkeiten.

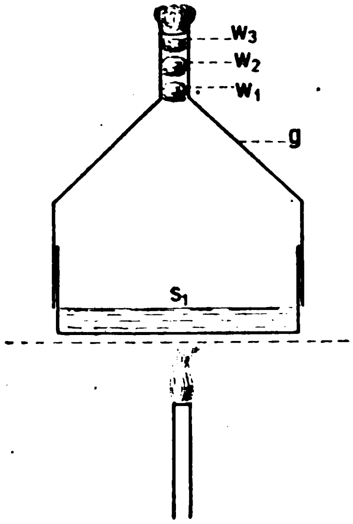
[Aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie der Deutschen Medizin- und Ingenieur-schule in Schanghai (Leiter: Prof. Dold]).

Von **H. Dold.**

Mit 1 Textfigur.

Man ist gewohnt, Wasserdampf von ca. 100° C unter allen Umständen als steril zu betrachten. Daß diese Anschauung einer gewissen inschränkung bedarf, dürfte aus folgenden Versuchen hervorgehen:

Es kam mir darauf an, den beim Kochen bzw. beim Erhitzen auf ca. 100° C aus bakterienhaltigen Flüssigkeiten abziehenden Dampf auf etwaigen Keimgehalt zu untersuchen. Zu diesem Zwecke bediente ich mich der in nebenstehender Figur abgebildeten Vorrichtung. Ueber eine Glasschale S_1, welche die zu erhitzende, bakterienhaltige Flüssigkeit enthält, wird eine ebenfalls gläserne Glocke G gestülpt, welche der Glasschale gut eingepaßt ist und welche oben in einen runden Auslaß mündet, in dem sich übereinander 3 getrennte Wattebäusche W^1, W_2, W_3 befinden. Der Abstaud der Watte W vom Flüssigkeitsspiegel betrug ca. 25 ccm.



Bei der Anstellung der Versuche wurde folgendermaßen verfahren. Eine leere Glasschale S wurde mit der darüber gestülpten, die Wattebäusche W_1, W_2, W_3 enthaltenden Glocke zusammen 3 Std. lang im Dampftopf und hernach noch 2 Std. im Trockensterilisator bei 150° C sterilisiert. In eine zweite sterilisierte Glasschale S_1 wurde die zu prüfende bakterienhaltige Flüssigkeit vorsichttg eingebracht. Hierauf wurde behutsam die Schale S mit der die Bakterienflüssigkeit enthaltenden, auf Dreifuß und Drahtnetz ruhenden Schale S_1 ausgetauscht. 5 Min. später 1) haben wir die bakterienhaltige Flüssigkeit in der Schale S_1 bis zur Dampfbildung erhitzt und dann nach verschiedenen Zeitperioden die Wattebäusche W_1 und W_1 in sterile Bouillonkölbchen gebracht und bebrütet.

Das Ergebnis dieser Versuche ist in den folgenden Tabellen 1 u. 2 zusammengestellt:

Tabelle 1.

Inhalt der zum Kochen erhitzten Flüssigkeiten (0,85 % NaCl-Lös.)	Kulturergebnisse der Wattebäusche W_1 und W_2 nach											
	½ Min.		1 Min.		2 Min.		3 Min.		5 Min.		10 Min. langem Kochen	
	W_1	W_2	W_1	W_2	W_1	W_2	W_1	W_2	W_1	W_2	W_1	W_2
B. prodigiosum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. pyocyaneus	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. subtilis	4mal + unter 5 Vers.	—	3mal + unter 5 Vers.	—	1mal + unter 5 Vers.	—	—	—	—	—	—	—
B. mesentericus	2mal + unter 5 Vers.	—	1mal + unter 5 Vers.	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. anthracis	3mal + unter 5 Vers.	—	2mal + unter 5 Vers	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. coli	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

---

1) Um etwaigen, trotz aller Vorsicht beim Einbringen der Flüssigkeit in die Luft gelangten Wasserbläschen (Keimen) Zeit zu geben, sich zu sedimentieren.

Tabelle 2.

Inhalt der bis zur Dampfbildung erhitzten Flüssigkeiten (0,85 % NaCl-Lös.)	Kulturelle Ergebnisse der Wattebäusche W_1 und W_2 nach											
	½ Min.		1 Min.		2 Min.		3 Min.		5 Min.		10 Min. langem Dampfen	
	W_1	W_2	W_1	W_2	W_1	W_2	W_1	W_2	W_1	W_2	W_1	W_2
B. prodigiosum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. pyocyaneus	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. subtilis	2mal + unter 5 Vers.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. mesentericus	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. anthracis	1mal + unter 5 Vers.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. coli	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Zum Verständnis der Tab. 1 und 2 sei folgendes bemerkt:

Die Versuche der Tab. 1 unterscheiden sich von denen der Tab. 2 dadurch, daß bei den ersteren die bakterienhaltige Flüssigkeiten rasch zum Kochen gebracht und kochend gehalten worden sind, während bei den letzteren die Flüssigkeit nur bis zur Dampfbildung erhitzt und dann dampfend (und zwar nur dampfend, nicht sichtbar kochend) gehalten wurde. Die in beiden Versuchsreihen angegebenen Zeiten (½, 1, 2, 3—10 Min.) besagen, daß die Wattebäusche, vom Augenblick des Kochens bzw. der Dampfbildung an gerechnet, nach ½, 1, 2, 3—10 Min. entnommen und kulturell untersucht worden sind. Jeder einzelne, in den Tabellen vermerkte Versuch ist in 5-facher Ausführung gemacht worden. Wenn also beispielsweise in Tab. 1 beim B. pyocyaneus vermerkt ist, daß die kulturelle Untersuchung des Wattebausches 2 nach 3 Min. langem Kochen der in der Schale S_1 befindlichen, Pyocaneusbazillen enthaltenden Flüssigkeit ein negatives Ergebnis hatte, so bedeutet dies, daß alle 5 Versuche negativ ausfielen. In den Fällen, wo positive Ergebnisse erzielt worden sind, ist angegeben, wie oft unter den angestellten 5 Versuchen die kulturelle Untersuchung positiv ausfiel.

Betrachten wir die in den Tab. 1 und 2 zusammengestellten Versuchsergebnisse, so fällt zunächst der durchgehende Unterschied in dem Verhalten der sporentragenden und der nicht-sporentragenden Bakterien auf. Bei den untersuchten nicht-sporenbildenden Bakterien (B. prodigiosum, B. pyocyaneus, B. coli) erwiesen sich die Wattebäusche durchweg steril, während bei den untersuchten Sporenträgern (B. subtilis, B. mesentericus, B. anthracis) der Dampf gelegentlich die betreffenden Keime in die Wattebäusche trug. Hierbei zeigte sich ein deutlicher Unterschied zwischen den Versuchen der Tab. 1 und 2. Bringt man die sporenhaltigen Flüssigkeiten rasch zum Kochen, so werden häufiger Keime mit dem Dampf davongetragen, als wenn man die Flüssigkeiten nur langsam und vorsichtig bis zur Dampfbildung erhitzt.

Es geht ferner aus den Versuchen klar hervor, daß der Sporentransport hauptsächlich in den ersten Sekunden und Minuten nach Eintritt des Siedezustandes stattfindet. Daß die über den Wattebäuschen 1 gelagerten Wattebäusche 2 sich regelmäßig als steril erwiesen, ist auf die filtrierende Wirkung der vorgelagerten Watte zurückzuführen.

Wenn wir uns fragen, auf welchem Mechanismus dieser Bakterientransport durch Dampf beruht, so liegt am nächsten, anzunehmen, daß bei der Erhitzung bakterienhaltiger Flüssigkeiten bis zur Siedetemperatur die emporsteigenden, mit Bakterien behafteten Bläschen an der Oberfläche platzen und dabei die Bakterien in die Luft schleudern, wo sie dann mit dem abziehenden Dampfstrom weiter getragen werden. Bringen wir die bakterienhaltige Flüssigkeit zum lebhaften Kochen, so findet ein fortwährendes Platzen zahlreicher aufsteigender bakterienhaltiger Bläschen statt. Die Voraussetzungen für die Möglichkeit eines Bakterientransportes durch Dampf werden in diesem Falle besser erfüllt sein, als wenn wir die bakterienhaltige Flüssigkeit nur bis zur Dampfbildung erhitzen. Eine Bestätigung dieser Auffassung liefert der Vergleich der Tab. 1 und 2. Bei den Versuchen der Tab. 1, wo die Flüssigkeiten bis zum sichtbaren Kochen erhitzt worden waren, wurden mehr Bakterien durch den Dampf verschleppt als bei den Versuchen der Tab. 2, wo die Flüssigkeiten nur bis zur Dampfbildung gebracht worden waren. Wenn in diesen Versuchen trotzdem ein Transport von Keimen festgestellt werden konnte, so liegt dies wohl daran, daß sich die Bildung platzender Bläschen praktisch eben doch nicht vermeiden läßt.

Es ist ohne weiteres verständlich, daß im allgemeinen nur die resistenten Bakterienformen, vor allem die Sporen, diesen Vorgang überleben können, und daß darum nur sie für einen Transport durch Dampf praktisch in Betracht kommen. Auch leuchtet ein, daß ein solcher Transport lebender Keime leichter möglich ist, wenn die Bakterien (Sporen)-haltige Flüssigkeit rasch zum Kochen gebracht wird, weil in diesem Falle der keimschädigende Einfluß der erhöhten Temperatur nur kurz zur Einwirkung gelangt.

Die Feststellung, daß der Dampf bakterienhaltiger Flüssigkeiten unter Umständen Bakterien mit sich führt und verstreut, hat, wie ich glaube, nicht bloß ein theoretisches Interesse, sondern auch eine gewisse praktische Bedeutung. Das vielfach geübte Verfahren, Bakterienkulturen und überhaupt bakterielles, infiziertes Material in gewöhnlichen Dampftöpfen zu sterilisieren, erscheint nach unseren Versuchsergebnissen wegen der dabei erfolgenden Sporenverstreuung etwas bedenklich, namentlich wenn solche Desinfektionen tagtäglich und jahraus, jahrein in einem Raume ausgeführt werden. Der Dampfdesinfektion in geschlossenen Apparaten (Autoklaven) ist auch in dieser Hinsicht der Vorzug zu geben.

Zusammenfassung:

1) Wasserdampf von 100° C ist nicht unter allen Umständen als steril zu betrachten.

2) Während der Dampf von Flüssigkeiten, welche nur vegetative Bakterienformen enthalten, sich regelmäßig als steril erwies, konnten in dem abströmenden Dampf von Flüssigkeiten, welche reichlich Sporenformen (B. subtilis, B. mesentericus, B. anthracis) enthielten, die betreffenden Bakterienarten unter gewissen Bedingungen manchmal nachgewiesen werden.

3) Wenn eine reichlich sporenhaltige Flüssigkeit rasch zu lebhaftem

Kochen erhitzt wird, können Bakteriensporen mit dem Dampf verschleppt werden, und zwar hauptsächlich in den ersten Sekunden und Minuten nach Eintritt des Siedezustandes. Ein solcher Bakteriensporentransport wurde gelegentlich auch in den Fällen beobachtet, wo die Erhitzung nur bis zur sichtbaren Dampfbildung getrieben worden war.

4) Für die Praxis ergibt sich daraus, daß die geschlossene Dampfdesinfektion vor der offenen, auch wegen der bei letzterem Verfahren vorhandenen Gefahr der Sporenverstreuung, den Vorzug verdient.

Nachdruck verboten.

Cylicostomum brevicapsulatum n. sp., eine neue Strongylide aus dem Darm des Pferdes.

Von **J. E. W. Ihle**, Tierärztliche Hochschule, Utrecht.

Mit 6 Textfiguren.

Die neue Art fand ich in ziemlich großer Zahl im Dickdarm eines Pferdes, welches im Anatomischen Institut der Tierärztlichen Hochschule in Utrecht seziert worden war. Eine sehr kurze, vorläufige Beschreibung in holländischer Sprache ohne Figuren wurde in der Tijdschr. v. Diergeneesk. Dl. 47. 1920. p. 182 veröffentlicht. Die ausführlichere Beschreibung folgt hier:

Die neue Art ist jedenfalls selten, da ich sie im umfangreichen Material, welches die holländische Kommission für die Untersuchung der Sklerostomiasen des Pferdes gesammelt hat, nur einmal aufgefunden habe. Die außerordentliche Kürze der Mundkapsel veranlaßt mich, sie Cylicostomum brevicapsulatum zu nennen.

Das Männchen ist 9—11$^1/_2$ mm lang (maximale Dicke 480—560 μ), das Weibchen 10—13$^1/_2$ mm (maximale Dicke 650—750 μ). Kurz hinter dem Vorderende nimmt die Dicke des Körpers zu, wodurch ein dünneres Kopfende vom übrigen Teil des Körpers abgesetzt ist.

Der Mundkragen ist hoch und durch eine Furche vom übrigen Teil des Körpers abgetrennt. Offenbar ist er stark kontraktil. Wenn der Mund weit offen ist, ist der vordere Rand des Kragens glatt, wenn aber der Kragen sich zusammenzieht, zeigt dieser Rand mehr oder weniger tiefe Einschnitte. Die stumpfen, lateralen Mundpapillen (Fig. 1) ragen kaum über die Oberfläche empor, während die submedianen Papillen ziemlich kurz sind (ungefähr 10 μ lang). Letztere werden in der gewöhnlichen Weise durch einen Einschnitt in einen breiteren proximalen und einen schmäleren distalen Teil zerlegt. Der proximale Teil ist nur wenig länger als der distale. Die dorsoventrale Achse der Mundöffnung ist etwas länger als die transversale. Die äußere Blätterkrone besteht aus ca. 45 schlanken und spitzen Elementen, welche, wenn der Mundkragen nicht kontrahiert ist, deutlich aus dem Munde hervorragen.

Die innere Bekleidung des Mundkragens zeigt manchmal eine mehr oder weniger deutlich ausgebildete Ringfurche (Fig. 2), welche an der Länge nach durchschnittenen Exemplaren als eine feine Linie sichtbar ist. (Auf Fig. 1 ist sie nicht angegeben.) Von dieser Furche geht ein

Septum aus, welches den Raum des Mundkragens in einen größeren dorsolateralen und einen kleineren ventromedialen Teil zerlegt. Die innere Bekleidung des Mundkragens setzt sich fort bis zur Mundkapsel, welche bei dieser Art außerordentlich kurz ist und nur dem hinteren Teil der Mundkapsel anderer Arten entspricht. Der hintere Rand der Mundkapsel zeigt einen eigentümlichen Verlauf. An 3 Stellen (dorsolateral und ventral), welche den Einschnitten zwischen den Oesophagussektoren entsprechen, hat dieser Rand eine nach hinten gerichtete Ausbuchtung (Fig. 1). Auch der vordere Rand besitzt 3 Buchten, welche den des hinteren Randes entsprechen, aber schwächer ausgebildet sind. Die Mundkapsel hat deshalb im Bereiche der Buchten die größte und zwischen den Buchten die geringste Tiefe (nur ca. 7 μ). Die Reihe von Löchern, welche bei anderen Cylicostomum-Arten dem hinteren Rand der Kapsel entlang verläuft, fehlt auch hier nicht. Die Elemente der inneren Blätterkrone scheinen durchaus zu fehlen. Eine dorsale Rinne fehlt.

Fig. 1.

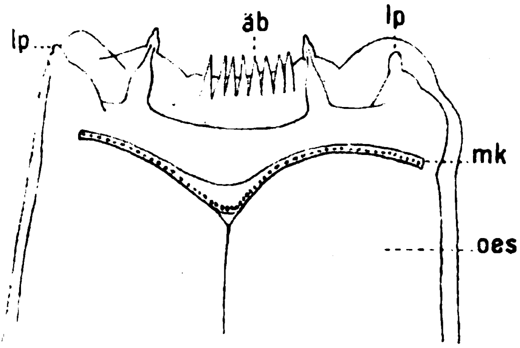


Fig. 2.

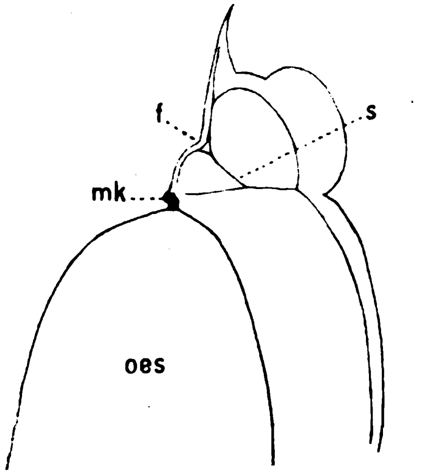


Fig. 3.

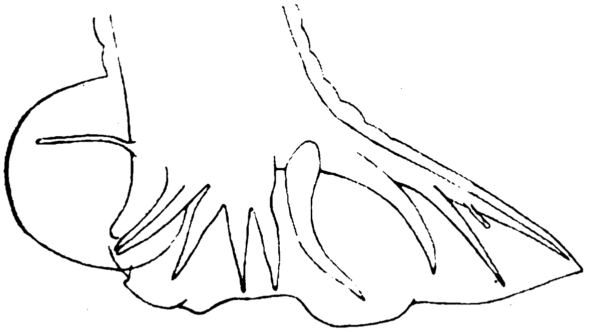


Fig. 4.

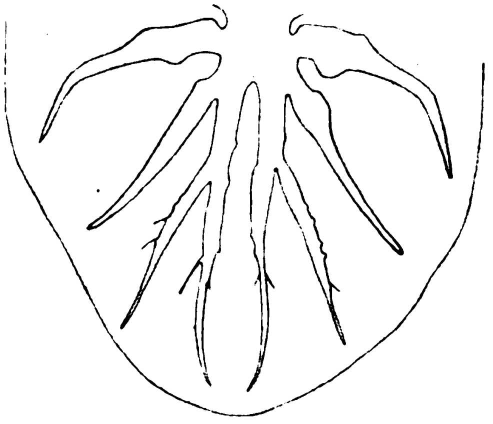


Fig. 1. Ventrale Hälfte des Vorderendes eines durch einen Längsschnitt halbierten Tieres, von innen gesehen. $\times$ 265 ($\times\,^2/_3$). *äb* = äußere Blätterkrone; *lp* = laterale Papille; *mk* = Mundkapsel; *oes* = Oesophagus.

Fig. 2. Längsschnitt durch den vorderen Teil des Körpers. Das Tier wurde durch einen Schnitt in 2 Hälften zerlegt. $\times$ 630 ($\times\,^2/_3$). *f* = Furche an der Innenseite des Mundkragens; *mk* = Mundkapsel; *oes* Oesophagus; *s* = Septum im Mundkragen.

Fig. 3. Bursa copulatrix von der linken Seite gesehen. - $\times$ 87 ($\times\,^2/_3$).

Fig. 4. Medianer Lappen der Bursa copulatrix (flach ausgebreitet). $\times$ 110 ($\times\,^2/_3$).

Die Länge des Oesophagus beträgt beim Männchen 450—500 μ, beim Weibchen 550—635 μ. Gleich hinter seinem Anfang nimmt seine Dicke etwas ab, dann wird er ungefähr zylindrisch, um hinter dem Nervenring seine maximale Dicke zu erreichen (beim Männchen 165 μ, beim Weibchen bis 245 μ). Die Exkretionsblase liegt in einiger Entfernung vor dem Hinterende des Oesophagus.

Die Bursa copulatrix (Fig. 3, 4) hat einen breiten und abgerundeten, medianen Lappen von mittlerer Länge, welcher ohne scharfe Grenze in die seitlichen Lappen übergeht. Die dorsalen Rippen zeigen einen medianen Spalt, welcher sich fast bis zur Ursprungsstelle der posteriolateralen Rippen erstreckt. Gleich hinter diesen Rippen entspringt jederseits die externo-dorsale Rippe. Die Aeste der dorsalen Rippen zeigen nichts Besonderes. Sie haben eine unregelmäßige Kontur und sind mit akzessorischen Zweigchen versehen. Die externo-dorsale Rippe ist in der gewöhnlichen Weise distal schräg nach hinten gebogen. Die posteriolateralen und medio-lateralen Rippen verlaufen quer und enden in unmittelbarer Nähe des Randes der Bursa, während die externo-laterale Rippe schräg nach vorn verläuft und weit vom Rande der Bursa endet. Der Abstand zwischen den Enden der externo-lateralen und der mediolateralen Rippe ist deshalb bedeutend größer als die zwischen den Enden der medio-lateralen und posterio-lateralen Rippe. Die ventralen Rippen enden in der Nähe des Randes der Bursa.

Fig. 5.

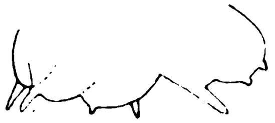


Fig. 5. Anhang des Genitalconus. × 460 (× 2/3).

Fig. 6.

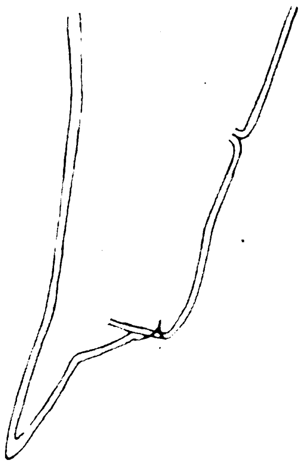


Fig. 6. Hinteres Körperende des ♀ mit Vulva und After, von der rechten Seite gesehen. × 110 (× 2/3).

Der Genitalconus besitzt einen mächtigen Dermalkragen, welcher sich auch auf seine hintere Fläche ausbreitet. Der Anhang des Conus (Fig. 5) ist unpaar, quergestellt und bei dieser Art offenbar sehr variabel. Er ist mehr oder weniger deutlich gelappt und trägt eine größere oder kleinere Zahl von Fortsätzen von variabler Länge.

Schon vor der Vulva fängt der Körper des Weibchens an, dünner zu werden. Die Vulva liegt weit vor dem After (Fig. 6). Dieser Abstand beträgt meist 330—350 μ, variiert aber zwischen 270—370 μ. Die Vagina hat eine bedeutende Länge (950—1060 μ). Der After ist, wie gewöhnlich, ein Querspalt. Der Abstand vom After bis zum hinteren Körperende beträgt (in gerader Linie gemessen) 210—300 μ, in einem Falle betrug er 370 μ. Hinter dem After wird der Körper plötzlich dünner und endet in eine konische, meist gut abgesetzte Spitze, die meist 140 bis 165 μ lang ist. Sie ist nach hinten und meistens nur wenig dorsalwärts gerichtet; in einem Falle bildet sie einen Winkel von ca. 45° mit der Längsachse des Körpers. Selten ist das ganze hintere Körperende (einschl. der Region der Vulva) dorsalwärts gebogen.

Die neue Art steht im Genus ziemlich isoliert durch die eigentümliche Ausbildung der Mundkapsel. Das hintere Körperende erinnert an das von C. radiatum Looss, aber der Abstand zwischen Vulva und After ist bei C. brevicapsulatum größer als bei den übrigen Cylicostomum-Arten (einschl. C. radiatum). In den Gattungen Poteriostomum und Craterostomum ist dieser Abstand noch bedeutend größer als bei C. brevicapsulatum[1]).

Nachdruck verboten.

Kultur von Flagellaten in festen Nährböden.

[Aus dem bakteriologischen Institut der Universität in Budapest (Direktor: Prof. H. Preisz).]

Von Privatdozent Dr. **L. Gózony.**

Aus dem Blute einer Eule, in dem ich mikroskopisch Leukocytozoen und ein einziges Mal auch große Trypanosomen gefunden hatte, gelang es mir, im Kondenswasser von Kaninchenblutagar Flagellaten zu züchten, und zwar waren es meist schlanke, lange Crithidien- und nur wenig dickere Trypanosomenformen.

Ob diese Flagellaten vom Leukocytozoon stammen, wie es Schaudinn, Mayer, Prowazek, Dutton annehmen, oder aber von im Eulenblute fast immer parasitierenden Trypanosomen, wie Wenyon und andere glauben, darauf will ich jetzt nicht eingehen.

Für meine Versuchszwecke war die Kondenswasserkultur nicht geeignet, weshalb ich versuchte, ob diese Flagellaten auch in festen Nährböden kultivierbar seien. Zuerst arbeitete ich mit peptonhaltiger, gewöhnlicher 10-proz. Gelatine in Röhrchen; die Gelatine wurde verflüssigt und in mehrere Röhrchen je ein Stückchen frischer, steriler Kaninchenniere versenkt. Einige Röhrchen wurden noch vor der Erstarrung der Gelatine mit Flagellaten geimpft und dann in Eis zum Erstarren gebracht (Schüttelkultur), in anderen legte ich nach der Erstarrung mit dem Blute Stichkulturen an.

Nach 1 Woche entwickelten sich in der Schüttelkultur unter der Oberfläche kleine, runde, kaum sichtbare Kolonien, die nach 1 Woche etwas größer wurden und ca. 1 mm Durchm. erreichten. Eine kleine, aus der Gelatine herausgeholte Kolonie zeigt unter dem Mikroskope eine einzige Flagellatenrosette.

Im Stiche wuchsen die Flagellaten von unten nach oben immer üppiger, an der Oberfläche der Gelatine einen Belag bildend. Da die Gelatine aber von Nierenfermenten verflüssigt wurde, habe ich es mit Agarkulturen versucht.

---

[1]) Demnächst hoffe ich, eine Uebersicht der jetzt bekannten Cylicostomum-Arten zu geben nebst ihrer Synonymik. Ich bemerke jetzt nur, daß die von mir auf S. 132. Bd. 84 dies. Zeitschr. erwähnte Art C. nanum Ihle (= C. calicatiforme Kotlán) den Namen C. longibursatum Yorke et Macfie zu tragen hat, da sie von den englischen Autoren zuerst beschrieben wurde (Ann. trop. med. parasit. Vol. 11. 1918. p. 400). Dr. C. L. Boulenger (Birmingham) war so freundlich, hierauf meine Aufmerksamkeit zu lenken.

Aus halbverdünnter Fleischbrühe mit 2 Proz. Pepton und $^1/_2$ Proz. Agar-Agar wurden Nährböden gekocht, mit 5 ccm 10-proz. Na_2CO_3 auf 1 Lit. leicht alkalisiert, in Röhrchen abgefüllt und im Autoklaven sterilisiert. Die Agarsäule war ungefähr 3 cm hoch.

Die so fertiggehaltenen Agarröhrchen wurden nach Verflüssigung bei 45° C mit Kaninchenniere beschickt und entweder gleich mit Flagellaten geimpft und Schüttelkulturen, oder nach Erstarrung des Agars Stichkulturen gemacht. Nach 1 Woche wurden bei Zimmertemperatur in den Agar-Schüttelkulturen Kolonien und ebenso in den Stichkulturen Wachstum der Flagellaten sichtbar.

Die Flagellaten, die in festen Nährböden wuchsen, sind etwas dicker und größer, als diejenigen der Blutkulturen, bewegen sich aber ebenso lebhaft.

In Bouillon mit Nierenzusatz wuchsen die Flagellaten, an der Oberfläche ein Häutchen bildend, sehr üppig; sie sind jedoch kleiner als die der festen Nährböden und an ihrem hinteren Ende fast alle abgerundet. Die Rosetten bestehen fast nur aus runden Flagellaten. Auch sind runde, sich teilende Formen sichtbar. Die Fortzüchtung in Agar gelingt ohne Schwierigkeiten; ich habe jetzt schon die 6. Generation.

Am besten hat sich als Zusatz Kaninchenniere bewährt; andere Organe scheinen für die Züchtung der Trypanosomen nicht so geeignet zu sein. Auch Organe von Meerschweinchen und Kalbföten konnten die Kaninchenniere nicht ersetzen.

Zusammenfassung.

Es ist mir als Erstem gelungen, in Agar-Agar mit Kaninchennieren- und ohne Blutzusatz Flagellaten zu züchten und isolierte Flagellatenkolonien zu erhalten.

Inhalt.

Ammenhäuser, Beitrag zur Serodiagnostik der Syphilis mittels der Sachs-Georgischen Ausflockungsreaktion, S. 521.

Bau, Arminius, Die Elchrachenbremse Cephenomyia ulrichi Brauer und ihre Larvenstadien, S. 541.

Becker, Rudolf, Ueber die Art der Begattung bei Pferdebandwürmern, speziell bei Anoplocephala mamillana (Mehlis), S. 537.

Dold, H., Ueber Bakterientransport durch den Dampf bakterienhaltiger Flüssigkeiten, S. 558.

Fukuda, F., Experimentelle Untersuchungen über Milzbrandinfektion bei Ratten, S. 516.

Gózony, L., Kultur von Flagellaten in festen Nährböden, S. 565.

Hartwich, Ueber die fusospirilläre Assoziation bei Otitis media, S. 535.

Ihle, J. E. W., Cylicostomum brevicapsulatum n. sp., eine neue Strongylide aus dem Darm des Pferdes, S. 562.

Kongsted, Elisabeth, Vergleichende Untersuchungen über die Methoden von Herman und von Ziehl-Neelsen zur Färbung von Tuberkelbazillen, S. 513.

Lénárd, W., Eine Agar-Agar fressende Milbe, S. 539.

Meyenburg, H. v., Versuche zum Nachweise von Schimmelpilzen im Mageninhalt der Leiche und der Entwicklungshemmung oder -förderung von Schimmelpilzen durch Mageninhalt als Nährbodenzusatz, S. 554.

Ohira, Toshinobu, Beiträge zur Kenntnis der Lyssa, S. 528.

Olsen, Otto, Untersuchungen über den Pfeifferschen Influenzabazillus während der Grippepandemie 1918—1920. I, S. 497.

Inhaltsverzeichnis.

I. Verzeichnis der in Band 84 enthaltenen Arbeiten.

Ammenhäuser, Beitrag zur Serodiagnostik der Syphilis mittels der Sachs-Georgischen Ausflockungsreaktion. 521

Baatz, Zur Frage der Auflösung von Tuberkelbazillen durch spezifische Immunstoffe. 81

Bach, F. W., Ueber gramnegative Mikrokokken als Erreger einer Panophthalmie. 214

—, Untersuchungen über die Säureflockung von Proteus-Stämmen. 265

Bau, Arminius, Die Elchrachenbremse Cephenomyia ulrichi Brauer und ihre Larvenstadien. 541

Becker, Leopold, Vergleichende Untersuchungen über die Widerstandsfähigkeit von Anaërobensporen gegen Siedehitze in Hirnbreiröhrchen. 71

Becker, Rudolf, Teratologische Studien an Pferdebandwürmern. 435

—, Ueber die Art der Begattung bei Pferdebandwürmern, speziell bei Anoplocephala mamillana (Mehlis). 537

Christiansen, M., Der Walfischseptikämiebazillus und sein Verhältnis zur Oedembazillengruppe. 127

Croner, Fritz, Ueber die desinfizierenden Eigenschaften der Gluthschen Farben im Vergleich mit anderen Farbanstrichen. 314

Ditthorn, Fritz, Ueber einige neuere Desinfektionsmittel. II. 486

Dold, H., Ueber Bakterientransport durch den Dampf bakterienhaltiger Flüssigkeiten. 558

Eckstein, Fritz, Zur Systematik der einheimischen Stechmücken. 3. Vorläufige Mitteilung: Die Männchen. 223

Eichhoff, Erich, Beitrag zur Meningokokkendiagnose. 461

Eisler, M., Ueber den Einfluß von Präzipitin auf Toxin-Antitoxinverbindungen, 46

Fischer, Walther, Ueber Darmparasiten bei Gesunden und Kranken in Shanghai. 135

—, u. **Scheidemann, Hans,** Klinisches und Histologisches über Hunde-Babesiose. 35

Freund, Ludwig, Die Stigmen und Trachealatrien der Anopluren (Läuse). 142

Fukuda, F., Experimentelle Untersuchungen über Milzbrandinfektion bei Ratten. 516

Geilinger, Hans, Mitteilung über einen eigenartigen bakteriologischen Befund bei einer bombierten Fleischkonserve. 152

Gerlach, Franz, Zur Frage der Wirksamkeit von normalem Serum bei der Milzbrandinfektion. 396

Gózony, L., Kultur von Flagellaten in festen Nährböden. 565

Gräfe, Fr. s. Pfeiler, W.

Graetz, Fr., Ueber die Verbreitungsweise der Diphtheriebazillen im menschlichen Organismus. 401

György, Paul, Beitrag zur Systematik der Paracoli-Bazillen. 321

Hartwich, Ueber die fusospirilläre Assoziation bei Otitis media. 535

van Heelsbergen, T., Beitrag zur Kenntnis der Geflügelpocken, insbesondere mit Bezug auf ihre Verwandtschaft mit der Vogeldiphtherie, der Stomatitis pustulosa contagiosa equi und der Vakzine. 288

Hintze, K., Ueber die Beeinflussung der Wa-R durch das Komplement infizierter Tiere, nebst Bemerkungen über den Co.-Gehalt des Meerschweinchenserums. 65

van Hoogenhuijze, C. J. C., Zur Aetiologie der spanischen Grippe. 88

Ihle, J. E. W., Cylicostomum brevicapsulatum n. sp., eine neue Strongylide aus dem Darm des Pferdes. 562

—, Eine neue Cylicostomum-Art (C. mucronatum) aus dem Darm des Pferdes. 132

—, Hexodontostomum markusi n. gen., n. sp., eine neue Strongylide des Pferdes. 43

Kongsted, Elisabeth, Vergleichende Untersuchungen über die Methoden von Herman und von Ziehl-Neelsen zur Färbung von Tuberkelbazillen. 513

Kopatschek, Fritz s. Werdt, Felix.

Kostrzewski, J., Untersuchungen über die Blutserumeigenschaften bei den tollwutschutzgeimpften Menschen. 107

Lauber, Ilse, Bakteriologische Untersuchungsergebnisse der Mannheimer Ruhrepidemie Juli bis November 1917. 201

Lénárd, W., Eine Agar-Agar fressende Milbe. 539

Loewenhardt, Felix E. R., Ueber gegenseitige Beziehungen der Agglutinine des Bazillus X 19 und der Typhus- und Ruhrgruppe. 191

Löwy, O., Beiträge zur Toxinentgiftung. 61

Massur, F. W., Verminal, ein neues Ungeziefermittel. 148

v. Meyenburg, H., Versuche zum Nachweise von Schimmelpilzen im Mageninhalt der Leiche und der Entwicklungshemmung oder -förderung von Schimmelpilzen durch Mageninhalt als Nährbodenzusatz. 554

Moll, Theodor, Untersuchungen über die

Wirksamkeit einiger chemischer Infektionsmittel auf Tetanussporen. 416
Müller, Hermann, Die Verwendbarkeit der intrakutanen Tuberkulinprobe zur Diagnose der Meerschweinchentuberkulose. 256
Ohira, Toshinobu, Beiträge zur Kenntnis der Lyssa. 528
Olsen, Otto, Untersuchungen über den Pfeifferschen Influenzabazillus während der Grippepandemie 1918—1920. I. 497
Otto, R., u. Papamarku, P., Weitere Beiträge zur experimentellen Fleckfieberinfektion des Meerschweinchens. 12
Papamarku, P. s. Otto, R.
Pfeiler, W., u. Gräfe, Fr., Mitteilungen über die Serodiagnose der Rotzkrankheit. 9. Kommen nicht spezifisch ablenkende Substanzen im Blute von Eseln und Eselbastarden konstant vor? 279
Plaut, Rahel, Ueber drei Fälle von Infektion mit echten, streng anaëroben Streptotricheen. 440
Prausnitz, Carl, Weil-Felixsche Reaktion und X 19-Immunserumagglutination. 103
Reichenow, Eduard, Eutrichomastix lacertae im Blut und in blutsaugenden Milben. 466
Reitler, Rud, u. Robicsek, Hans, Zur Kenntnis der Flagellaten im menschlichen Harn. 129
Robicsek, Hans s. Reitler, Rud.
Rodella, A., Beitrag zum Studium der Aktinomykose. 450
Saul, E., Untersuchungen zur Aetiologie und Biologie der Tumoren. XXII. Mitteilung. (Condyloma acuminatum. — Verruca vulgaris. — Cholesteatom.). 20
Scheidemann, H. s. Fischer, Walther.
Schubert, Otto, Ueber Koloniebildung der Bakterien. 1
v. Schuckmann, W., Ueber den Einfluß spezifischer Sera auf die Flagellatenstadien von Kulturamöben. 304
Seebohm, Hans, Ueber Herstellung und Anwendung von Impfstoffen zur Behandlung bakterieller Krankheiten. 479
Seyler, Bakteriologische Untersuchungsergebnisse der Mannheimer Ruhrepidemie Juli bis November 1917. 2. Pathologisch-anatomischer Teil. 262
Sierakowski, Stanislaw, Ueber die Einwirkung verschiedener Methoden der Impfstoffbereitung auf den Agglutinationstiter der gegen Cholera und Typhus Schutzgeimpften. 161
—, Ueber Mitagglutination bei Cholera. Beitrag zur Diagnose der Cholera. 178
Wagner, Gerhard, Beiträge zur Kenntnis der Milzbrand- und milzbrandähnlichen Bazillen. 386
Wauschkuhn, Fritz, Der Vorgang der Sporenbildung beim Milzbrandbazillus. 31
v. Werdt, Felix, u. Kopatschek, Fritz, Ueber das Verhalten der Ruhrbazillen in eiweißfreien Nährböden. 95
Wodtke, Gerhard, Ueber den Einfluß des Bakterientoxins auf das leukozytäre Blutbild bei Typhusbazillenträgern. 114
Wolf, J. E., Beiträge zur Biologie des Pfeifferschen Influenzabazillus. Mischkulturen — Mischinfektion. 241

II. Sachverzeichnis.

Aedes cinereus Meigen. 240
Aetiologie der spanischen Grippe. 88
— und Biologie der Tumoren. 20
Agglutination bei Cholera. 178
Agglutinationstiter und Impfstoffbereitung. 161
Agglutinine bei X 19 und Typhus-Ruhrgruppe. 191
Aktinomykose. 450
Alkalien, Desinfektionswirkung. 427
Alkohole, Desinfektionswirkung. 420
Amöben, Einfluß spezifischer Sera. 304
Anaerobensporen, Widerstandsfähigkeit. 71
Anopheles bifurcatus L. 230
— maculipennis Meig. 229
Anoplocephala magna. 435
— mamillana. 439. 537
— perfoliata. 438
Anopluren, Stigmen und Trachealatrien. 142
Ausflockungsreaktion nach Sachs-Georgi. 521

Babesia canis. 35
Bacillus anthracis s. Milzbrandbazillen.
— diphtheriae s. Diphtheriebazillen.
— X 19, Agglutinine. 191
— — Immunserumagglutination und Weil-Felix-Reaktion. 103
Bakterien, Koloniebildung. 1
Bandwürmer des Pferdes. 435. 537
Biologie und Aetiologie der Tumoren. 20

Caral A und B, Desinfektionswirkung. 489
Cephenomyia ulrichi Brauer. 541
Cholera, Impfstoffbereitung und Agglutinationstiter. 161
— Mitagglutination. 178
Cholesteatom, Aetiologie und Biologie. 20

Condyloma acuminatum, Aetiologie und Biologie. 20
Cresilol, Desinfektionswirkung. 488
Culex pipiens Meig. 231
— territans Walker. 231
Culicada annulipes Meig. 235
— cantans. 235
— diversa Theobald. 237
— dorsalis. 236
— nemorosa Meig. 239
— nigrina Eckstein. 239
— ornata Meig. 236
Culicella morsitans Theobald. 232
Culiseta annulata Schwante. 233
— glaphyroptera. 234
Cylicostomum brevicapsulatum n. sp. 562
— mucronatum. 132

Dampfdesinfektion. 558
Darmparasiten bei Gesunden und Kranken. 135
Desinfektion, Eigenschaften der Gluthschen Farben. 314
Desinfektionsmittel, neuere. 486
— Wirkung auf Tetanussporen. 416
Diphtheriebazillen, Verbreitung im Organismus. 401

Elchrachenbremse. 541
Eutrichomastix lacertae. 466

Färbungsmethode für Tuberkelbazillen. 513
Farben, Gluthsche, desinfizierende Eigenschaften. 314
Flagellaten im menschlichen Harn. 129
— Kultur. 565
Flagellatenstadien von Kulturamöben. 304
Fleckfieber, experimentelle Infektion des Meerschweinchens. 12
— Weil-Felixsche Reaktion. 103
Fleischkonserven, bakteriologischer Befund. 152
Formalin, Desinfektionswirkung. 431
Fusospirilläre Assoziation. 535

Geflügelpocken, Beitrag zur Kenntnis. 288
Gluthsche Farben, desinfizierende Eigenschaften. 314
Grippe, Aetiologie. 88
Grippepandemie, Bakteriologie. 497

Halogene, Desinfektionswirkung. 429
Hexodontostomum markusi n. gen., n. sp. 43
Hundebabesiose, Klinisches und Histologisches. 35

Impfstoffbereitung, Einfluß auf Agglutinationstiter. 161
Impfstoffe, Herstellung und Anwendung. 479
Influenza s. Grippe.
Influenzabazillus Pfeiffer. 241. 497

Kentausan, Desinfektionswirkung. 495
Koloniebildung der Bakterien. 1
Komplement infizierter Tiere. 65
Komplementgehalt des Meerschweinchenserums. 65
Kresole, Desinfektionswirkung. 424

Läuse, Stigmen und Trachealatrien. 142
Lyssa. 528

Mansonia richiardii Ficalbi. 232
Meningokokkendiagnose. 461
Mikrokokken, gramnegative, Erreger einer Panophthalmie. 214
Milbe, Agar-Agar fressende. 539
Milzbrand, Infektion bei Ratten. 516
— Wirkung vom normalen Serum. 396
Milzbrandbazillen, Sporenbildung. 31
— Variabilität. 386
Mitagglutination bei Cholera. 178

Oedembazillen. 127
Optiform, Desinfektionswirkung. 494
Otitis media. 535

Panophthalmie durch gramnegative Mikrokokken. 214
Paracoli-Bazillen, Systematik. 321
Parasiten des Darmes. 135
Parol, Desinfektionswirkung. 491
Perubalsam, Desinfektionswirkung. 432
Pfeifferscher Influenzabazillus. 241. 497
Pferdebandwürmer. 435, 537
Präzipitin, Einfluß auf Toxin-Antitoxinverbindungen. 46
Proteusstämme, Säureflockung. 265

Rotzkrankheit, Serodiagnose. 279
Ruhrbazillen, Verhalten in eiweißfreien Nährböden. 95
Ruhrepidemie, bakteriologische Ergebnisse. 201
— pathologisch-anatomische Ergebnisse. 262
Ruhr- und Typhusgruppe, Beziehungen der Agglutinine des Bac. X 19. 191

Sachs-Georgische Ausflockungsreaktion. 521
Säureflockung von Proteusstämmen. 265
Schimmelpilze im Mageninhalt. 554
Schutzimpfung bei Cholera und Typhus. 161
— bei Milzbrand 396
— bei Tollwut. 107
Sporen von Anaëroben, Widerstandsfähigkeit. 31
Stechmücken, Systematik. 223
Stomatitis pustulosa contagiosa equi. 288
Streptotricheen. 440
Strongylide, eine neue des Pferdes. 43. 562
Syphilis, Serodiagnostik. 521

Tetanussporen, Wirkung von Desinfektionsmitteln. 416
Tetosol, Desinfektionswirkung. 487
Tollwut, Schutzimpfung. 107. 528

Toxin-Antitoxinverbindungen, Einfluß von Präzipitin. 46
Toxinentgiftung. 61
Tuberkelbazillen, Auflösung durch spezifische Immunstoffe. 81
— Färbungsmethoden. 513
Tuberkulinprobe, intrakutane. 256
Tuberkulose des Meerschweinchens, Diagnose. 256
Tumoren, Aetiologie und Biologie. 20
Typhus, Impfstoffbereitung und Agglutinationstiter. 161
Typhus- und Ruhrgruppe, Beziehungen der Agglutinine des Bac. X 19. 191
Typhusbazillenträger, Einfluß des Bakterientoxins auf Leukozyten. 115
Tyroglyphus longior. 539
Ungezieferbekämpfung mittels Verminal. 148
Vakzine, Pocken. 288
Variabilität bei Milzbrandbazillen. 386
Verminal, Ungeziefermittel. 148
Verruca vulgaris, Aetiologie und Biologie. 20
Vogeldiphtherie. 288
Walfischseptikämiebazillus. 127
Wassermannsche Reaktion, Beeinflussung durch Komplement infizierter Tiere. 65
Wasserstoffsuperoxyd, Desinfektionswirkung. 428
Weil-Felixsche Reaktion. 103
Wundstreupulver, Desinfektionswirkung. 432
Wut s. Tollwut.

III. Verzeichnis der Abbildungen.

Aktinomyceskulturen. 454—456
Anoplocephala magna. 436. 437
— mamillana. 538
Anopluren, Stigmen und Trachealatrien. 143. 145. 146
Cephanomyia ulrichi Brauer (Taf. I. II). 553. 554
Cholesteatom, Schnittpräparat. 25—29
Condyloma acuminatum, Schnittpräparat. 21. 22.
Cylicostomum brevicapsulatum n. sp. 563. 564
— mucronatum. 133
Dampfdesinfektion, Prüfungsapparat. 559
Eutrichomastix lacertae (Taf.). 478
Flagellaten im menschlichen Harn (Taf.). 130
Hexodontostomum markusi n. g., n. sp. 44. 45
Koloniebildung der Bakterien. 4. 9. 11.
Influenza, bakteriologische Befunde. 91
Milzbrand, Sporenbildung. 33
Milzbrandbazillus, Variabilität (Taf. I. II). 396
Paracolibazillen, Koloniebildung. 369—380
Stechmücken, Systematik. 224—227. 229. 231—235. 237—239
Streptotricheeninfektionen. 442. 443. 446
Verruca vulgaris, Schnittpräparat. 23. 24

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena. — 4811

DATE DUE SLIP
UNIVERSITY OF CALIFORNIA MEDICAL SCHOOL LIBRARY

THIS BOOK IS DUE ON THE LAST DATE
STAMPED BELOW

1m-7,'25

v.84 Zentralblatt f.bakteri-
1920 ologie (Originale 1 abt)

17134

Library of the
University of California Medical School
and Hospitals
1m-9,'25